



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Departament de Medicina

Facultat de Medicina i Odontologia

Efecto del género y parámetros antropométricos en marcadores de estrés oxidativo e inflamación en situación postprandial

Programa de Doctorado en Medicina

Tesis doctoral

Presentada por:
Jordi Ferri Císcar

Dirigida por:
Dr. Juan Francisco Ascaso Gimilio
Dr. José Tomás Real Collado

Valencia, 2015



VNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Departament de Medicina
Unitat docent d'Endocrinologia i Nutrició

D. Juan Francisco Ascaso Gimilio, Doctor en Medicina y Catedrático del Departament de Medicina de la Universitat de València, y D. José Tomás Real Collado, Doctor en Medicina y Profesor Titular del Departament de Medicina de la Universitat de València

CERTIFICAN:

Que D. Jordi Ferri Císcar, licenciado en medicina en la Facultat de Medicina de la Universitat de València, ha realizado bajo nuestra dirección la tesis doctoral titulada: **“Efecto del género y parámetros antropométricos en marcadores de estrés oxidativo e inflamación en situación postprandial”**, y que reúne todos los requisitos para ser presentada y defendida para optar al Grado de Doctor por la Universitat de València.

Valencia, 23 de enero de 2015.

Fdo. Dr. Juan Francisco Ascaso Gimilio

Fdo. Dr. José Tomás Real Collado

Agradecimientos

Al Profesor José T. Real, director de esta tesis, por su estímulo y ayuda en todo momento, por haberme enseñado a pensar y transmitirme la ilusión clínica e investigadora.

Al Profesor Juan F. Ascaso, director de esta tesis, por su apoyo constante en todo este trabajo y su inestimable ayuda.

Al Profesor Carmena, por haberme hecho amar la Medicina y la Endocrinología, y por hacer crecer a todos los que nos hemos formado a su lado.

Al Doctor Javier Chaves y al resto de integrantes del Laboratorio por su continua colaboración.

A Geles por su amabilidad y colaboración en tantas y tantas extracciones.

A toda la gente que ha hecho posible este trabajo.

A mis padres y hermano, por estar siempre ahí

A Dina, por hacerme feliz

ÍNDICE

I. Introducción

1. Arteriosclerosis y riesgo cardiovascular
2. Estrés oxidativo
 - 2.1. Componentes del estrés oxidativo
 - 2.2. Estrés oxidativo y arteriosclerosis
3. Inflamación crónica de bajo grado
 - 3.1. Inflamación e inicio de arteriosclerosis
 - 3.2. Componente del complemento (C3)
4. Lipemia postprandial
 - 4.1. Fisiología de la lipemia postprandial
 - 4.2. Lipemia postprandial y arteriosclerosis
 - 4.3. Lipemia postprandial, estrés oxidativo e inflamación
 - 4.4. Efecto de los diferentes ácidos grasos dietéticos sobre la oxidación e inflamación
 - 4.5. Efecto del género en la lipemia postprandial
 - 4.6. Efecto de los parámetros metabólicos en la lipemia postprandial

II. Hipótesis y objetivos

III. Sujetos y métodos

IV. Resultados

1. Comparación de los parámetros en el grupo completo dividido por géneros.
2. Comparación de los parámetros analizados a nivel postprandial en el grupo completo dividido en sujetos con normopeso y sobrepeso.
3. Resultado de las correlaciones en el grupo completo.

V. Discusión

1. Determinación de los niveles de GSH, GSSG, MDA, LDLox, moléculas de adhesión endotelial (VCAM e ICAM) y C3 en plasma en ayunas y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras una sobrecarga oral de grasa (SOGr) con grasa insaturada en sujetos sanos, normolipidémicos no diabéticos.
2. Efecto del género en los marcadores de EO (GSH, GSSG, MDA y LDLox), del marcador de inflamación crónica de bajo grado componente C3 del complemento y moléculas de adhesión endotelial en situación postprandial tras una SOGr con grasa insaturada.
3. Comparación entre sujetos con normopeso y sobrepeso de la respuesta de los marcadores de EO, del marcador de inflamación crónica de bajo grado componente C3 del complemento y de las moléculas de adhesión endotelial en situación postprandial tras una SOGr con grasa insaturada.

VI. Conclusiones

VII. Bibliografía

Listado de abreviaturas utilizadas

AA: ácido araquidónico (C20:4)	GSSG: glutatión oxidado
ADMA: dimetilarginina asimétrica	γGCT: gamma-glutamylcistein sintetasa
ADN: ácido desoxirribonucleico	γGT: gamma-glutamyl transpeptidasa
AE: arteriosclerosis	5-HMdU: 5-hidroximetil-2'-desoxiuridina
AGL: ácidos grasos libres	HADPH: β-nicotinamida adenin dinucleótido fosfato
AGMI: ácidos grasos monoinsaturados	H₂O₂: peróxido de hidrógeno
AGPI: ácidos grasos poliinsaturados	HOMA: Homeostasis model assessment
AGS: ácidos grasos saturados	HTGL: lipasa de triglicéridos hepática
Apo: apolipoproteína	ICAM-1: intracellular adhesion molecule-1
BH4: tetrahidrobiopterina	IDL: lipoproteína de densidad intermedia
CAT: catalasa	IgG: inmunoglobulina G
cHDL: colesterol HDL	IgM: inmunoglobulina M
CI: cardiopatía isquémica	IL: interleucina
cLDL: colesterol LDL	INFγ: interferon gamma
CT: colesterol total	IMC: índice de masa corporal
Cu: cobre	IR: insulinoresistencia
cVLDL: colesterol VLDL	LDLR: receptor de LDL
Cys-gly : péptidos cisteín-glicina	LDLox: LDL oxidadas
DHA: ácido docosahexaenoico (C22:6)	LOH: alcohol lipídico
DNA[•]: radical DNA	LOOH: hidroperóxido lipídico
ECV: enfermedad cardiovascular	LPL: lipoproteinlipasa
eNOS: sintetasa de óxido nítrico endotelial	LPP: lipemia postprandial
EPA: ácido eicosapentaenoico (C20:5)	LRP: <i>LDLR</i> -related protein
8-epi-PGF₂: prostaglandina F ₂ -alfa-8 isoprostano	M: metales
EO: estrés oxidativo	MAC: complejos de ataque de membrana
ERON's: especies reactivas de oxígeno y nitrógeno	MAPK: mitogen-activated protein kinases
FRAP: ferric reducing ability of plasma	MASP: MBL associated serine proteases
GPX: glutatión peroxidasa	MBL: mannan-binding lectin
GSH: glutatión reducido	MBP: mannose-binding protein
GR: glutatión reductasa	MCP-1: monocyte chemotactic protein-1
GRX: glutaredoxina	
GS: glutatión sintetasa	
GS[•]: radical tiil	
GSNO: glutatión nitroso	
GSS: glutatión-s-transferasa	

MDA: malonil-di-aldehído

Mn: manganeso

NADH: nicotinamida adenina dinucleótido reducida

NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducida

NF- κ B: nuclear factor κ B

NO: óxido nítrico

NOS: sintetasa de óxido nítrico

n-3: ácidos grasos de la serie omega 3

n-6: ácidos grasos de la serie omega 6

O₂⁻: anión superóxido

OH⁻: grupo hidroxilo

[•]OH: radical hidroxilo

ONOO⁻: peroxinitritos

ORAC: oxygen-radical absorbance capacity

8-oxo-dG: 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina

8-oxo-dGTP: 8-oxo-7,8-dihidrodeoxiguanosina trifosfato

PAS: presión arterial sistólica

PAD: presión arterial diastólica

PES: prostaglandina endoperóxido sintetasa

PGG₂: prostaglandina G₂

PGH₂: prostaglandina H₂

Proteína-SH: proteína sulfidrilo o proteína tiol

Proteína-SSG: proteína mezcla disulfito

Proteína-SSX: proteína unión bisulfito

QM: quilomicrones

R[•]: radical secundario

ROS: reactive oxygen species

Se: selenio

S-H: enlace hidrógeno sulfuro

SOD: superóxido dismutasa

SOGr: sobrecarga oral grasa

TAS: total antioxidant status

TBARS: thiobarbituric reactive acid substances

TG: triglicéridos

TNF α : factor de necrosis tisular α

VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1

VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad

XO: xantín-oxidasa

Zn: zinc

I. Introducción

I. Introducción

1. Arteriosclerosis y riesgo cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la primera causa de morbilidad y mortalidad en el mundo desarrollado (1), lo que supone en España aproximadamente el 40% de la mortalidad en la edad adulta (2).

La arteriosclerosis (AE) es la principal causa de las ECV y es un proceso patológico que afecta fundamentalmente a las arterias de mediano y grueso calibre. La AE es una enfermedad sistémica que se caracteriza por el endurecimiento y la pérdida de elasticidad de la pared arterial, y la formación de una placa aterosclerosa resultante del acumulo de lípidos y material fibroso entre las capas íntima y media del vaso provocando el estrechamiento de la luz arterial; la posterior ruptura de la placa y formación de un trombo intraluminal provoca la isquemia y necrosis del territorio dependiente de la arteria ocluida (3).

Las lesiones arterioscleróticas son consecuencia de múltiples factores inflamatorios y de estrés oxidativo que contribuyen en su patogénesis desde la disfunción endotelial, que constituye un paso inicial en el proceso de AE, inducida por el transporte de las partículas oxidadas de colesterol LDL (cLDL) a través del endotelio al interior de la pared arterial. Los factores clásicos de riesgo cardiovascular como diabetes, hipercolesterolemia, hipertensión arterial y tabaquismo generan estrés oxidativo (EO) activando el factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$); éste, a su vez, activa numerosos genes involucrados en una serie de respuestas celulares y moleculares específicas en el proceso inflamatorio. Este proceso inflamatorio y de EO está presente en el inicio, el desarrollo y en las complicaciones de las placas de aterosclerosis (4,5).

El riesgo de desarrollar AE y su complicación clínica, la enfermedad cardiovascular, no es uniforme en toda la población y depende de numerosos factores. Por ello, las ECV de origen arteriosclerótico son un modelo de patología multifactorial, donde confluyen tanto factores ambientales como genéticos.

Los cambios en los hábitos alimentarios de la población han promovido un aumento en el número de ingestas diarias, con lo que la mayoría de individuos pasan la mayor parte del día en situación postprandial.

Se ha sugerido que el 40% de todos los pacientes con enfermedad arterial coronaria prematura presentan niveles normales de lípidos en ayunas, pero disminución en el aclaramiento de lipoproteínas en situación postprandial (6). Además, esta

disminución en el aclaramiento de lipoproteínas está aumentada en sujetos con alto riesgo cardiovascular; obesidad abdominal, diabetes y síndrome metabólico (6,7).

2. Estrés oxidativo

2.1. Componentes de estrés oxidativo

El EO aparece por la existencia de un desequilibrio a favor de los sistemas oxidativos sobre los mecanismos de defensa antioxidante. Este desequilibrio conduce a la generación de elevadas cantidades de radicales libres y a la disminución de la velocidad de su neutralización.

En condiciones normales, existe un equilibrio entre la producción y degradación de radicales libres, principalmente derivados de oxígeno, funcionando incluso como señales celulares imprescindibles para la actividad celular (8,9). Cuando existe un exceso de productos de estas moléculas se produce el EO, que origina una serie de daños celulares a varios niveles: lípidos de membranas, ácido desoxirribonucleico (ADN) y proteínas (10–12). También origina una serie de reacciones de oxidación de diferentes componentes sanguíneos: oxidación de lipoproteínas y eliminación del óxido nítrico (NO) circulante. Esta oxidación de biomoléculas conduce a una pérdida de sus funciones biológicas, al descontrol homeostático y al potencial daño oxidativo en las células y tejidos (13). El propio EO y las moléculas oxidadas que origina tienen como consecuencia, a nivel celular una serie de respuestas mediadas por diferentes factores y moléculas que suponen la activación o represión de numerosos genes (5,12).

La importancia del estrés oxidativo y los productos resultantes radica en su implicación en el desarrollo de las enfermedades crónicas no transmisibles, tales como la obesidad (14), la ECV (15), la diabetes mellitus (11), los trastornos neurodegenerativos (16) y el cáncer (17). Además el EO también está implicado en la longevidad y el proceso de envejecimiento (18,19).

Los agentes oxidantes con mayor implicación en el desarrollo de la AE son los denominados “reactive oxygen species” (ROS) (20,21) que son una familia de moléculas altamente reactivas debido a la presencia de electrones desapareados. Estas especies se forman de manera natural como subproducto del metabolismo normal del oxígeno en todas las células. No obstante, el aumento de sus niveles puede resultar en daños significativos a las estructuras celulares contribuyendo al EO. Además en esta situación de exceso se comportan como radicales libres. Estas moléculas, interactúan con los mecanismos de señalización vascular, lo cual parece tener un papel fundamental en el control de la función endotelial. Los ROS

incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos tanto inorgánicos como orgánicos y engloban moléculas tales como el anión superóxido (O_2^-), el grupo hidroxilo (OH), óxido nítrico (NO) y radicales lipídicos. Otros ROS, como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), peroxinitritos ($ONOO^-$) y ácido hipocloroso no son radicales libres per se, pero tienen efecto oxidativo que también contribuye al EO (12, 22–25).

Los marcadores del estrés oxidativo pueden ser identificados y cuantificados mediante el análisis de la oxidación de lípidos, proteínas y del ADN. Además, la evaluación del EO puede realizarse mediante métodos indirectos basados en la capacidad antioxidante.

Existen numerosos sistemas enzimáticos que potencialmente pueden producir ROS en la pared vascular siendo los más importantes: xantina-oxidasa (XO), NADH/NADPH oxidasa y NO sintasa (12); conocer sus actividades o expresión genética es otra forma de aproximarnos al EO (Tabla 1).

Tabla 1: Descripción de marcadores de estrés oxidativo y enzimas relacionadas	
<i>Relacionados con la oxidación de lípidos</i>	
MDA	Aldehídos: productos de la oxidación de lípidos, el más abundante, el MDA, resulta de la oxidación de los ácidos grasos AA, EPA y DHA.
TBARS	Medida de la formación de MDA
8-epiPGF2	F2-isoprostanos: derivados del AA, el más representativo es el 8-epiPGF2.
Etano y pentano	Hidrocarburos volátiles, productos de la oxidación de los ácidos grasos n-3 y n-6.
LDLox	Daño oxidativo de la molécula transportadora de colesterol
<i>Relacionados con la oxidación de proteínas</i>	
Carbonilos	Resultado de la acción de las especies reactivas sobre las cadenas laterales de los aminoácidos
3-Nitrotirosina	Resultado de la acción de las ERONs sobre las proteínas
<i>Relacionados con la oxidación de ADN</i>	
8-oxo-dG	Resultado de la oxidación del ácido nucleico, guanina
5-HM-dU	Resultado de la oxidación del ácido nucleico, timina
<i>Capacidad antioxidante</i>	
TAS	Antioxidantes totales presentes en la

	muestra
FRAP	Antioxidantes que no contienen enlaces S-H
ORAC	Antioxidante específico, evaluado por medio de pruebas de fluorescencia.
ADMA	Inhibidor de la acción de la NOS
Enzimas oxidantes	
NADH/NADPH oxidasa eNOS XO	Generan O ₂ ⁻ , y pueden conducir a la disfunción endotelial por reducción de la biodisponibilidad de NO.

Lectura de las abreviaturas utilizadas en la tabla 1.

5-HMdU: 5-Hidroximetil-2'-Desoxiuridina; **8-epiPGF2:** Prostaglandina F2- α -8 Isoprostano; **8-oxo-dG:** 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina; **AA:** Ácido Araquidónico (C20:4); **ADMA:** Dimetilarginina Asimétrica; **DHA:** Ácido Docosahexaenoico (C22:6); **EPA:** Ácido Eicosapentaenoico (C20:5); **ERON's:** Especies Reactivas de Oxígeno y Nitrógeno; **FRAP:** Ferric Reducing Ability of Plasma; **LDLox:** LDL oxidadas; **MDA:** Malonil-di-aldehído; **n-3:** Ácidos grasos de la serie Omega 3; **n-6:** Ácidos grasos de la serie Omega 6; **NOS:** Sintetasa de óxido nítrico; **ORAC:** Oxygen-Radical Absorbance Capacity; **S-H:** enlace hidrógeno sulfuro; **TAS:** Total Antioxidant Status; **TBARS:** Thiobarbituric Reactive Acid Substances, **XO:** xantín-oxidasa, **eNOS:** sintetasa endotelial de NO.

La actividad de la NADH/NADPH oxidasa representa una de las principales fuentes de ROS en los vasos sanguíneos. Está presente en diversos tipos celulares: fagocitos, fibroblastos de la adventicia, células musculares lisas de los vasos sanguíneos y células endoteliales. Genera O₂⁻, y puede conducir a la disfunción endotelial por reducción de la biodisponibilidad de NO (5,12,24–26). El segundo sistema enzimático implicado es XO, un enzima presente a elevadas concentraciones en las células endoteliales que participa en el metabolismo de las purinas. Es una fuente importante de O₂⁻, y al igual que el anterior, la producción de O₂⁻ por XO supone una alteración de la biodisponibilidad de NO (5,12,24,25). Por último, NOS, particularmente eNOS (sintetasa endotelial de NO), pueden ser fuentes potenciales de O₂⁻ bajo determinadas situaciones fisiopatológicas. En condiciones normales, estas enzimas transfieren electrones a L-arginina para formar L-citrulina y NO, sirviendo como cofactor en este proceso la tetrahidrobiopterina (BH4). Sin embargo, si la biodisponibilidad de BH4 o de L-arginina desciende, eNOS se transforma desde un estado acoplado (generador de NO) a un estado desacoplado (generador de O₂⁻). Este último estado, en el endotelio puede llevar a EO y disfunción endotelial por tres mecanismos. Por un lado, porque la producción enzimática de NO está disminuida. En segundo lugar, porque el enzima comienza a producir O₂⁻, contribuyendo al EO. Finalmente, porque eNOS puede quedar sólo parcialmente desacoplada, de forma que O₂⁻ y NO se producen simultáneamente, y se generan peroxinitritos, contribuyendo también al incremento de EO(5,12,27).

Los ROS pueden producir daño celular a diferentes niveles, entre ellos el ADN. Así, durante los procesos de oxidación se produce 8-oxo-7,8-dihidrodeoxiguanosina trifosfato (8-oxo-dGTP) que modifica las bases en el ADN y genera 8-oxo-7,8-dihidro-2'-deoxiguanosina (8-oxo-dG), que se considera un substrato mutagénico importante para la replicación del ADN. Adicionalmente, 8-oxo-dG constituye un marcador de EO(28,29).

Otro marcador de EO es el malonil-di-aldehído (MDA), uno de los cetoaldehídos más abundantes, resultantes de la peroxidación de los ácidos araquidónico, eicosapentaenoico y docosahexaenoico. El exceso de MDA producido como resultado del daño tisular puede combinarse con grupos amino libres de las proteínas, generando modificaciones en dichas proteínas que parecen alterar sus propiedades biológicas, de forma que pueden resultar inmunogénicas, por lo que se generan autoanticuerpos frente a ellas, que en algunos estudios se han asociado con procesos arterioscleróticos (30). Este marcador será estudiado en el presente trabajo.

En contraposición a los anteriores, existen defensas antioxidantes que tienen la función de inactivar las especies reactivas de oxígeno y/o radicales libres, y como consecuencia, proteger contra los daños oxidativos. Estas acciones defensivas pueden ser llevadas a cabo por medio de distintos mecanismos: impedir la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), inhibir la acción de estos éstos (sistema barredor) y favorecer la reparación y reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación) (31). Las defensas antioxidantes son clasificadas, principalmente, en enzimáticas y no enzimáticas (tabla 2).

Tabla 2. Defensas antioxidantes y mecanismos de acción	
Antioxidantes	Acción
No enzimáticos	
Vitamina A (β -caroteno)	Protección contra la oxidación de lípidos y ADN.
Vitamina C (ácido ascórbico)	Estimulación del poder antioxidante de la vitamina E y selenio. Protección contra los daños causados por la LDL-ox.
Vitamina E (α -tocoferol)	Protección contra la peroxidación de los ácidos grasos insaturados de la membrana celular y de las LDL. Conversión de O_2^- y H_2O_2 en formas menos reactivas.
Cobre (Cu), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), Selenio (Se)	Cofactores de las enzimas antioxidantes SOD-Cu/Zn, SOD-Mn y GPX.
Otros carotenoides	Protección contra la oxidación de lípidos, LDL,

(licopeno)	proteínas y ADN. Secuestro e inactivación de radicales libres.
Fotoquímicos (resveratrol, catequinas, quercetinas, ácidos fenólicos y otros)	Protección contra la oxidación de lípidos y ADN
Enzimáticos	
Superóxido dismutasa (SOD)	SOD-Cu/Zn (citosol), SOD-Mn (mitocondria). Catálisis de la conversión de O_2^- en H_2O_2
Catalasa (CAT)	Catálisis de la conversión de H_2O_2 en O_2 y H_2O
Glutación peroxidada (GPX)	Reducción de H_2O_2 a H_2O y peróxidos lipídicos a alcoholes lipídicos
Glutación reductasa (GR)	Reducción de glutación
Glutación-s-transferasa (GSS)	Eliminación de oxidantes

Los sistemas enzimáticos antioxidantes vasculares limitan el acúmulo intra y extracelular de ROS producidos de forma basal. Estos sistemas antioxidantes incluyen: superóxido dismutasa (SOD) que convierte O_2^- en H_2O_2 , para prevenir la reacción de O_2^- con NO, evitando así la formación de peroxinitritos; catalasa (CAT), que reduce H_2O_2 a agua directamente; glutación peroxidasa (GPX), que reduce H_2O_2 a agua, y peróxidos lipídicos a alcoholes lipídicos mediante la oxidación de otros sustratos; glutación reductasa (GR), que reduce glutación; y glutación-s-transferasa (GSS), que elimina oxidantes (22,25).

El O_2^- generado por los diferentes sistemas enzimáticos, es transformado en H_2O_2 por la actividad de la familia de SODs. En los mamíferos existen tres tipos de SOD: Cu/Zn-SOD, Mn-SOD, y SOD extracelular (EC-SOD) (21). Cu/Zn-SOD está presente prácticamente en todas las células, sobre todo a nivel citoplasmático, con actividad en lisosomas, peroxisomas, núcleo y el espacio intermembrana mitocondrial. MnSOD se distribuye ampliamente a nivel mitocondrial, y contribuye al 10% de la actividad celular total. EC-SOD, localizada extracelularmente, es sintetizada por las células musculares lisas vasculares, y es útil para minimizar la inactivación endotelial dependiente de superóxido debida a NO (5,23,24).

El H_2O_2 que resulta de la acción de SODs (u otras oxidasas tales como XO) es reducido a agua por la CAT y la GPX. CAT, existe como un tetramero constituido por 4 monómeros idénticos, que contienen un grupo heme en el lugar activo, y se restringe prácticamente a los peroxisomas. La degradación de H_2O_2 es conseguida directamente por CAT.

Las glutación peroxidasa (GPX) son una familia de enzimas tetraméricas que requieren moléculas tales como el glutación reducido (GSH) para reducir H_2O_2 y peróxidos lipídicos, a sus correspondientes alcoholes, junto con la producción de glutación oxidado (GSSG) (22,24). Hasta el momento, se han descrito 4 isoformas de

GPX: GPX-1 (GPX celular ubiquitaria) reduce H_2O_2 así como peróxidos de ácidos grasos libres, pero no peróxidos de lípidos esterificados, ya que éstos son reducidos por GPX-4, que se localiza en la membrana. GPX-1 es la enzima antioxidante clave en la mayoría de células. GPX-2 (GPX gastrointestinal) está localizada en las células del epitelio gastrointestinal, donde reduce los peróxidos de la dieta. GPX-3 (GPX extracelular), que es el único miembro de la familia de GPX, que reside en el compartimento extracelular, y se cree que es el enzima antioxidante extracelular más importante en los mamíferos (21–24).

El principal antioxidante intracelular es el glutatión, un tripéptido formado por tres aminoácidos: glicina, cisteína y ácido glutámico, que utiliza el grupo tiol de la cisteína como agente reductor. El glutatión ayuda a proteger las células reduciendo especies reactivas del oxígeno como H_2O_2 gracias a la enzima glutatión peroxidasa (GPX) la cual cataliza la siguiente reacción: $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$

El glutatión reduce cualquier enlace disulfuro formado dentro de proteínas citoplasmáticas de cisteínas, al actuar como un donante de electrones. En el proceso, el glutatión reducido (GSH) se convierte en glutatión oxidado (GSSG). El glutatión se encuentra casi exclusivamente en su forma reducida, ya que puede regenerarse a partir de su forma oxidada por la enzima glutatión reductasa que es constitutivamente activa e inducible al estrés oxidativo. Un aumento de la proporción entre GSSG y GSH se considera un indicador de la toxicidad celular y un indicador de estrés oxidativo.

La ratio GSH/GSSG se utiliza como indicador del estado redox celular y es >10 en condiciones fisiológicas (32). GSH/GSSG constituye el mayor indicador de la capacidad antioxidante celular, aunque su valor puede verse afectado por otras parejas redox como NADPH/NADP (33). Este sistema glutatión, GSH y GSSG es el parámetro utilizado en el presente trabajo para el estudio del EO celular.

Las funciones de GSH conocidas actualmente, además de actuar como un agente reductor y ser el principal agente antioxidante intracelular manteniendo un estrecho control del estado redox, son diversas y participa en múltiples reacciones fisiológicas (34) (tabla 3).

Tabla 3. Funciones del glutatión	
Defensa antioxidante	<ul style="list-style-type: none"> - Retirada de radicales libres y otras especies reactivas - Eliminación de peróxidos de hidrógeno y lipídicos - Prevención de oxidación de biomoléculas - Mantenimiento de antioxidantes exógenos (vitamina C y E) en sus formas reducidas

Metabolismo	<ul style="list-style-type: none"> - Síntesis de leucotrienos y prostaglandinas - Conversión de formaldehído en formato - Metabolización de xenobióticos y agentes carcinógenos, orgánicos e inorgánicos a través de la conjugación directa - Reservorio y transporte de cisteína
Regulación	<ul style="list-style-type: none"> - Estado redox intracelular - Transducción de señales y expresión génica - Síntesis y reparación de ADN y proteínas - Proliferación celular y apoptosis - Producción de citoquinas y de respuesta inmune: amplificación de la respuesta linfocitaria - Integridad y funcionalidad mitocondrial

Estas propiedades biológicas han hecho que el papel de GSH se haya estudiado en múltiples enfermedades incluyendo el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, envejecimiento, isquemia y en enfermedades metabólicas (diabetes y obesidad).

El glutatión es el tiol de bajo peso molecular predominante en las células animales y se produce intracelularmente en todos los órganos y tipos celulares, siendo más abundante en hígado y pulmón. La mayoría de GSH (85–90%) se encuentra en el citosol alcanzando concentraciones de hasta 10 mM/L distribuido sobretudo en mitocondrias, retículo endoplasmático y peroxisomas para cumplir sus procesos biológicos. Las concentraciones extracelulares de GSH son relativamente bajas (0,01mM/L en plasma) debido a su rápido catabolismo (35,36).

Intracelularmente, GSH puede existir como monómero en su forma reducida o en su forma oxidada como un dímero disulfuro debido (GSSG), el cual supone en condiciones normales menos del 1% del contenido intracelular de glutatión. Los aumentos de GSSG son contrarrestados rápidamente al ser reducido por la glutatión reductasa. Sin embargo, en condiciones de altos niveles de EO, se puede alterar la actividad de GR produciéndose un aumento en la concentración de GSSG intracelular, que pasará al compartimento extracelular mediante receptores específicos (37).

La síntesis de glutatión de novo a partir de glutamato, cisteína y glicina está catalizada secuencialmente por la actividades de las enzimas gamma-glutamilcistein sintetasa (γ -GCT) y la glutatión sintetasa (GS). El glutatión también puede sintetizarse por otras vías que incluyen su catabolismo. El catabolismo del glutatión está mediado por la gamma-glutamyl transpeptidasa (γ -GT), que se expresa en la superficie celular. No sólo participa en el catabolismo de GSH sino también de GSSG y GSH-conjugados (tioésteres, mercaptanos...). La γ -GT retira la fracción gamma-glutamyl de GSH y los compuestos de GSH-conjugados y la trasfiere

a otros aminoácidos y péptidos, produciendo así gamma-glutamil-aminoácidos y péptidos cisteín-glicina (Cys-gly). Estos últimos son hidrolizados por dipeptidasas y transportados intracelularmente por receptores específicos para regenerar el GSH(34) (figura 1).

Figura 1. Síntesis y utilización de glutatión. Tomada de Guoyao Wu,² Yun-Zhong Fang, Sheng Yang, Joanne R. Lupton, and Nancy D. Turner Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. J. Nutr. 2004; 134: 489–492.

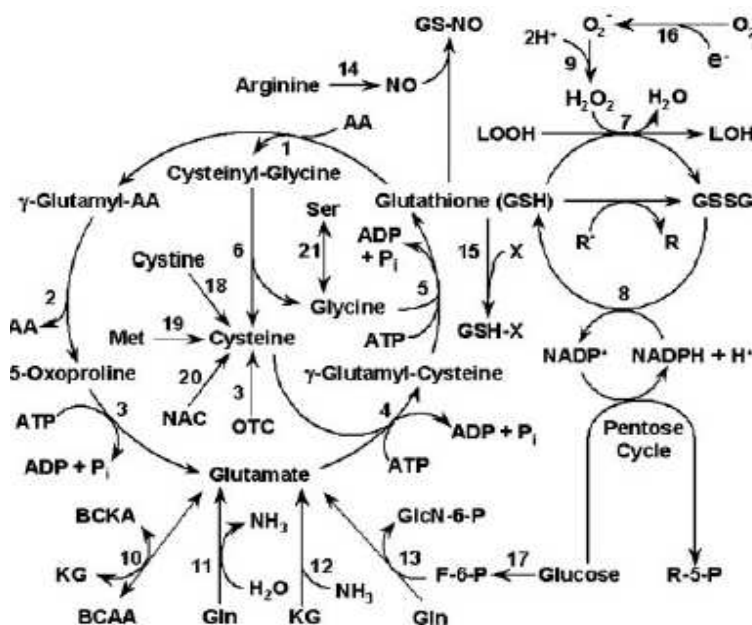


FIGURE 1 Glutathione synthesis and utilization in animals. Enzymes that catalyze the indicated reactions are: 1) γ -glutamyl transpeptidase, 2) γ -glutamyl cyclotransferase, 3) 5-oxoprolinase, 4) γ -glutamyl-cysteine synthetase, 5) glutathione synthetase, 6) dipeptidase, 7) glutathione peroxidase, 8) glutathione reductase, 9) superoxide dismutase, 10) BCAA transaminase (cytosolic and mitochondrial), 11) glutaminase, 12) glutamate dehydrogenase, 13) glutamine:fructose-6-phosphate transaminase (cytosolic), 14) nitric oxide synthase, 15) glutathione S-transferase, 16) NAD(P)H oxidase and mitochondrial respiratory complexes, 17) glycolysis, 18) glutathione-dependent thioldisulfide or thioltransferase or nonenzymatic reaction, 19) transsulfuration pathway, 20) deacylase, and 21) serine hydroxymethyltransferase. Abbreviations: AA, amino acids; BCKA, branched-chain α -ketoacids; GlcN-6-P, glucosamine-6-phosphate; GS-NO, glutathione-nitric oxide adduct; KG, α -ketoglutarate; LOO \cdot , lipid peroxyl radical; LOOH, lipid hydroperoxide; NAC, N-acetylcysteine; OTC, L-2-oxothiazolidine-4-carboxylate; R \cdot , radicals; R, nonradicals; R-5-P, ribulose-5-phosphate; X, electrophilic xenobiotics.

Como GSH constituye la mayor defensa antioxidante intracelular, su depleción puede ser una causa o prerrequisito para la generación de ROS, el cual podría desencadenar una amplia gama de respuestas celulares adversas (tabla 4).

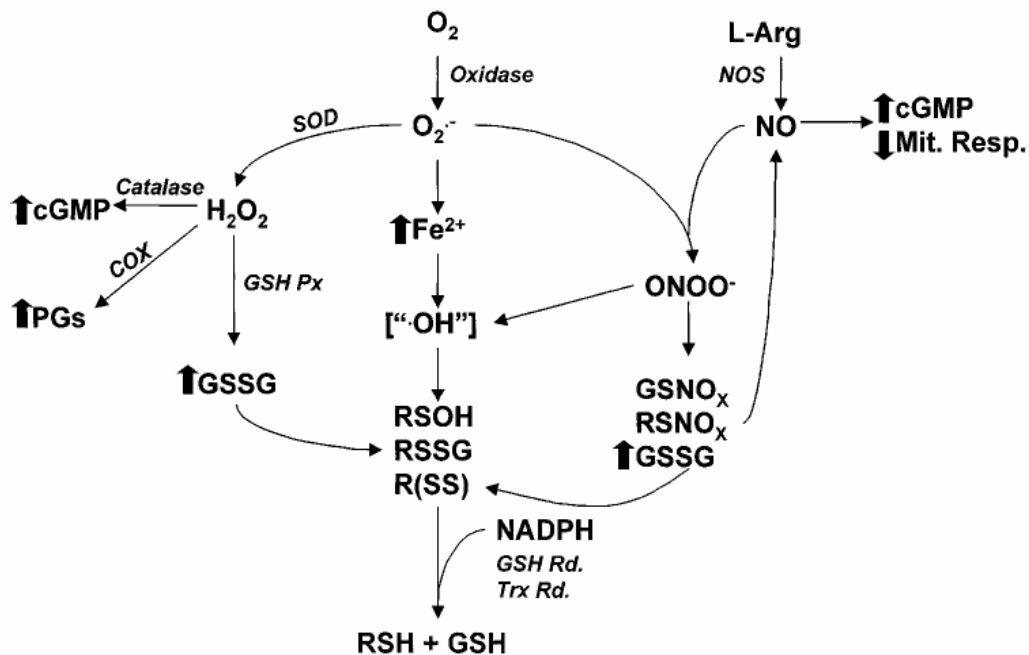
Tabla 4: Reacciones de oxido-reducción mediadas por GSH		
Precusores		Productos
GSH + $\cdot\text{OH}^-$	-->	$\text{GS}^\cdot + \text{H}_2\text{O}$
GSH + $\text{O}_2^- + \text{H}^+$	-->	$\text{GS}^\cdot + \text{H}_2\text{O}$
GSH + NO + O_2	-->	$\text{GSNO} + \text{O}_2^-$
GSH + R^\cdot	-->	$\text{GS}^\cdot + \text{RH}$
GSH + DNA^\cdot	-->	$\text{GS}^\cdot + \text{DNA}$
2 GSH + H_2O_2 GPX	-->GPX-->	GSSG + 2 H_2O
2 GSH + LOOH GPX	-->GPX-->	GSSG + LOH + H_2O
2 GSH + Dihidroascorbato DRH	-->DRH-->	GSSG + ácido ascórbico
2 GSH + Proteína-SSX GRX	-->GRX-->	GSSG + Proteína- $(\text{SH}_2)\text{X}$
GSH + Proteína-SSG GRX	-->GRX-->	GSSG + Proteína- SH
GSH + Mn	-->	$\text{M}^{n-1} + \text{GS}^\cdot$
GSH + PGG_2	-->PES-->	GSSG + PGH_2
$\text{GS}^\cdot + \text{GS}^\cdot$	-->	GSSG
GSSG + NADPH + H^+	-->GR-->	2 GSH + NADP^+

Lectura de las abreviaturas utilizadas en la tabla 4.

GSH: glutatión reducido, **GSSG:** glutatión oxidado; **GS^\cdot :** radical tiil, **GSNO:** glutatión nitroso, **$\cdot\text{OH}$:** radical hidroxilo, **O_2^- :** anión superóxido, **HADPH:** β -nicotinamida adenin dinucleótido fosfato, **Proteína-SSG:** proteína mezcla disulfito, **Proteína-SSX:** proteína unión bisulfito, **LOOH:** hidroperóxido lipídico, **LOH:** alcohol lipídico, **R^\cdot :** radical secundario, **DNA^\cdot :** radical DNA, **M:** metales, **Proteína-SH:** proteína sulfidrilo o proteína tiol, **PGG_2 :** prostaglandina G_2 , **PGH_2 :** prostaglandina H_2 , **PES:** prostaglandina endoperóxido sintetasa; **GRX:** glutaredoxina.

En la figura 2 se resumen los principales mecanismos de acción celulares implicados en la producción y la eliminación de las ROS.

Figura 2. Origen de ROS potencialmente involucrados en los mecanismos de señalización vascular. Tomada de Wolin MS. *Interactions of oxidants with vascular signaling systems. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1430-42.



Así pues, cuando existe un desequilibrio entre los agentes oxidantes y antioxidantes comentados, se generan una serie de metabolitos, así como la activación e inhibición de una serie de genes. Si pudiéramos medirlos podríamos conocer el grado de EO, ya que son estas modificaciones oxidativas en la pared arterial las que pueden iniciar o contribuir a la aterogénesis.

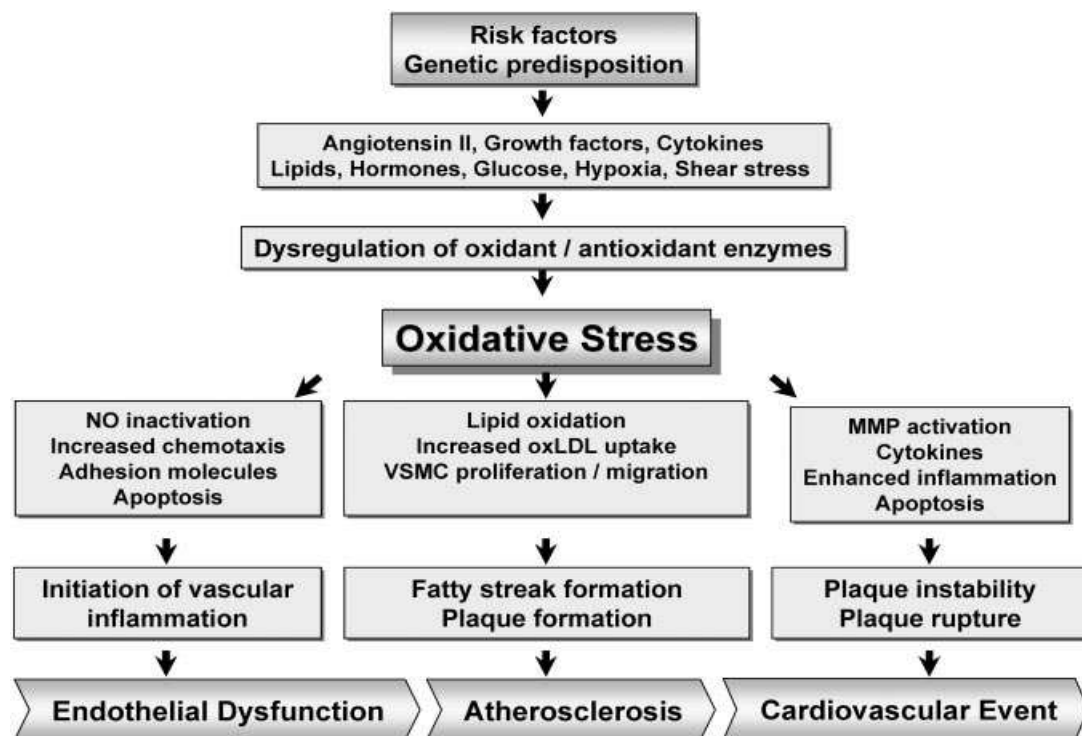
2.2. Estrés oxidativo y arteriosclerosis

Los factores clásicos de riesgo cardiovascular que predisponen a la arteriosclerosis tales como la hipertensión arterial, la hipercolesterolemia, la diabetes, el tabaquismo y la edad, están asociados con el estrés oxidativo y el desequilibrio entre mecanismos oxidantes y antioxidantes mediante la alteración en su expresión y actividad.

Los efectos del EO a través de ROS y la alteración en el óxido nítrico (NO) de las células vasculares se relacionan con la enfermedad cardiovascular y contribuyen al inicio, desarrollo y progresión de la arteriosclerosis en todos los estadios de la enfermedad (5,38,39).

El estrés oxidativo resultante de la disregulación enzimática puede desencadenar una amplia gama de respuestas celulares patológicas: inactivación de NO, oxidación lipídica modificaciones oxidativas del DNA y proteínas, aumento de la mitogenicidad y apoptosis en células vasculares y activación o represión de genes, tales como el receptor para las LDLox, moléculas de adhesión, factores quimiotácticos, citokinas proinflamatorias o reguladores del ciclo celular (figura 3).

Figura 3. Fisiopatología del estrés oxidativo y relevancia en la enfermedad cardiovascular. Tomado de Wassman S, Wassmann K, Nickenig G. *Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. Hypertension. 2004;44:381-386.*



Se ha demostrado la presencia de niveles aumentados de ROS en todas las capas de la pared arterial dañada así como en la placa ateromatosa. Diferentes estudios han demostrado aumento de actividad de NAD(P)H oxidasa en arterias en animales y humanos tras lesiones vasculares tanto a nivel coronario como carotídeo (40,41). Aumentos en la actividad de XO y disminución en la actividad de SOD se han observado en plasma y coronarias en pacientes con coronariopatía (42). Respecto a la actividad de glutatión, se ha encontrado una baja actividad de GPX en placas arterioscleróticas carotídeas (43) y se ha demostrado que las concentraciones

plasmáticas disminuidas de GPX1 constituyen un factor de riesgo independiente de enfermedad coronaria (44). Tomando en consideración los datos de todos estos estudios podemos decir que el estrés oxidativo, como modulación de sistemas oxidantes y antioxidantes, promueve episodios celulares patológicos que participan decisivamente en todas las fases de la patogénesis de la arteriosclerosis. Adicionalmente, conocemos que el EO puede modularse por factores como la edad, género y estado nutricional (6,11).

3. Inflamación crónica de bajo grado

3.1. Inflamación y arteriosclerosis

La inflamación crónica de bajo grado, al igual que el EO y la activación persistente del sistema inmune es un elemento fundamental en la patogenia de la arteriosclerosis (4) y en todas las etapas de la aterogénesis se evidencian procesos inflamatorios (10,45–47). La disfunción endotelial constituye un paso inicial en el desarrollo de la arteriosclerosis (48) y se asocia a múltiples factores tales como el EO, edad avanzada, género masculino, historia familiar de ECV, hiperlipemia, HTA, DM, obesidad o tabaquismo. Existe una clara asociación entre la disfunción endotelial y los niveles plasmáticos de las moléculas de adhesión (49) puesto que la alteración funcional del endotelio tiene como consecuencia la expresión aumentada de múltiples señales moleculares aterogénicas tales las moléculas de adhesión como VCAM-1 (“vascular cell adhesion molecule-1”) e ICAM-1 (“intracellular adhesion molecule-1”) (50), quimioquinas como la MCP-1 (“monocyte chemotactic protein-1”) (51), y otros múltiples factores de crecimiento (52) y citoquinas tales como el interferón gamma (INF γ), el factor de necrosis tisular alfa (TNF α) (53), el ligando CD40 soluble (54), las interleucinas (IL) IL-1, IL-3 IL-6, IL-8 e IL-18 (54–57) entre otros.

Estas moléculas de señalización permiten la adhesión de monocitos y linfocitos T al endotelio y su paso a la íntima. Los monocitos se transforman en macrófagos y posteriormente forman las células espumosas características de la estría grasa, la primera fase de la arteriosclerosis histológicamente presente como un engrosamiento focal de la íntima con incremento de células musculares y matriz extracelular (58). Las mismas moléculas son también responsables del crecimiento y desestabilización de la placa, siendo capaces de promover su ruptura, y de la naturaleza trombogénica de la placa a través del aumento en la expresión de moléculas como el factor tisular. Las moléculas anteriores son productos secretados por macrófagos, linfocitos y células endoteliales activadas y son, a su vez, inducibles por las citoquinas. Así pues se pueden considerar mediadores de la inflamación

vascular local. Los macrófagos de la íntima perpetúan el ciclo de la inflamación con citoquinas proinflamatorias, que conducen a la producción de metaloproteínas que degradan la matriz celular y contribuyen a la ruptura de la placa (59).

Por tanto, estas moléculas son básicas en el inicio y progresión de la arteriosclerosis motivo por las que las hemos seleccionado en nuestro estudio de investigación.

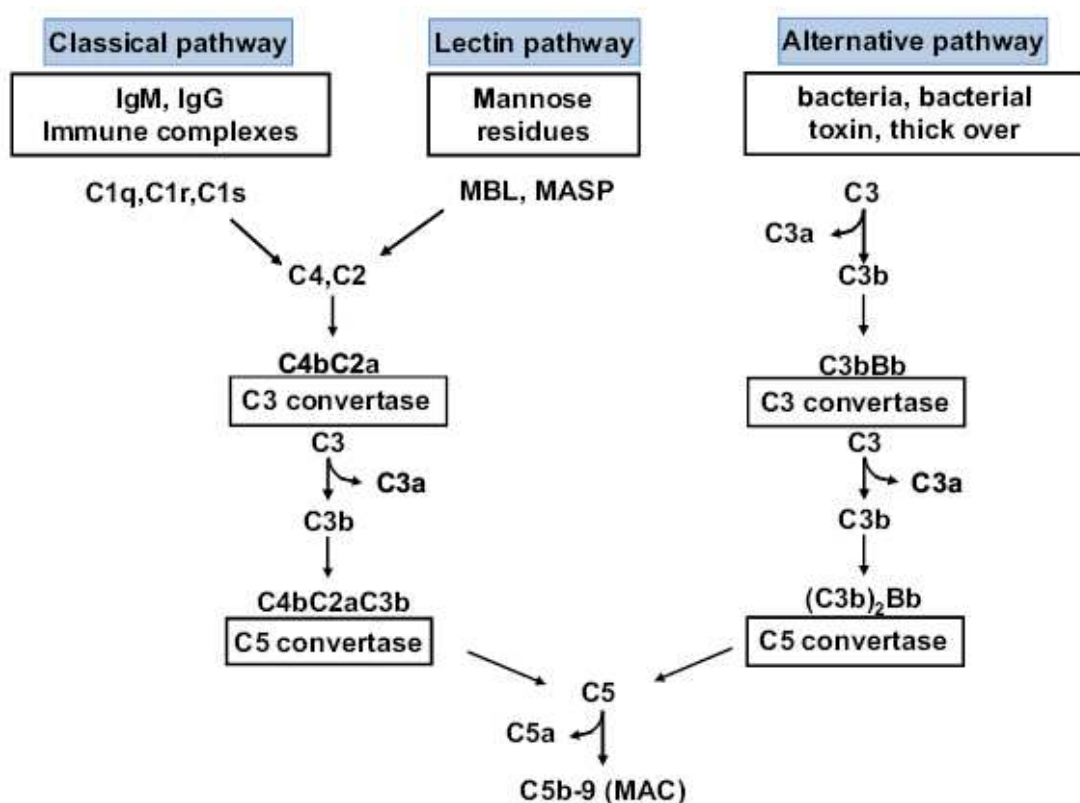
3.2. Componente del complemento (C3)

Dentro del proceso de la inflamación podemos encuadrar al sistema del complemento, componente fundamental de la inmunidad innata y necesario complemento (de ahí su nombre) de las respuestas mediadas por anticuerpos (60,61). El sistema del complemento está formado por proteínas plasmáticas y de membrana que se encuentran en el suero y otros líquidos biológicos de forma inactiva, y que al activarse de forma secuencial, intervienen en numerosas vías metabólicas y reacciones enzimáticas en cascada. La activación de estas vías resulta en el depósito de las fracciones del complemento en dianas específicas y la liberación de fracciones que promueven respuestas inflamatorias e inmunitarias.

El sistema del complemento se activa por tres vías: la vía clásica, la vía alternativa y la vía de las lectinas, que son iniciadas por mecanismos diferentes implicando proteínas que existen mayoritariamente como inactivas y secuencialmente se van fragmentando y activando (62) (Figura 4). La vía clásica de activación del complemento se desencadena cuando anticuerpos como inmunoglobulina M (IgM) o inmunoglobulina G (IgG) se unen a antígenos (virus, bacterias o autoantígenos). Estos inmunocomplejos se unen al complejo C1 cuyo componente C1s activado interviene en la fragmentación de C4 y C2 para generar C3 convertasa C4bC2a, un complejo enzimático que fragmenta C3, el componente central de la cascada del complemento, en C3a y C3b. El esquema de activación de la vía de las lectinas es similar a la vía clásica excepto que no necesita la presencia de anticuerpo y es sustituido por una lectina como es la proteína de unión a manosa o mannose-binding protein (MBP) también llamada mannan-binding lectin (MBL). La unión de MBL con moléculas en la superficie de patógenos conduce a la activación de las MBL asociadas a serina proteasas o MBL “associated serine proteases” (MASP) que son estructural y funcionalmente similares a los subcomponentes de C1 y también activan la fragmentación proteolítica de C2 y C4. La vía alternativa es un sistema de activación filogenéticamente más primitivo que no requiere la presencia de anticuerpos ni lectina, sino que es iniciada por polisacáridos y estructuras poliméricas similares. Esta vía constituye un estado de activación permanente del componente C3 que genera C3b. Cuando C3 se une a una superficie invasora se inicia un mecanismo de “feed-back” y forma un complejo con el Factor B llamado C3bBb que a su vez participa en la fragmentación de C3 a C3b. El complejo C3bBb es

altamente inestable y la vía alterna no continúa sin el rol estabilizador de una proteína circulante llamada properdina. Se forma de ese modo la C3 convertasa de la vía alternativa (compuesta por C3bBb), la cual actúa enzimáticamente sobre moléculas adicionales de C3, amplificando la cascada. La modificación de la C3 convertasa mediante la incorporación de C3b constituye la C5 convertasa.

Figura 4. Representación esquemática de la cascada del complemento con las tres vías de activación: clásica, lectinas y alternativa. Tomada de Noris M, Remuzzi G. Overview of complement activation and regulation. Semin Nephrol. 2013 Nov;33(6):479-92.



Las tres vías de activación convergen en C3 (la proteína del complemento más abundante en la sangre), resultando en la formación de productos de activación que van a desencadenar mecanismos de inflamación: liberación de anafilotoxinas (C3a, C4a, C5a), formación de complejos de ataque de membrana (MAC o C5b-9) y mecanismos de opsonización (63). Las anafilotoxinas son péptidos que actúan como potentes mediadores de la respuesta inflamatoria e inmune participando en múltiples procesos: motilidad celular hacia el foco inflamatorio (quimiotaxis y quimioquinesis), secreción de mediadores como histamina por parte de mastocitos,

contracción de músculo liso, dilatación de vasos sanguíneos, exudación plasmática y activación de numerosos tipos celulares, incluyendo células endoteliales, que intervienen en las respuestas inmunes e inflamatorias.

El sistema del complemento se reconoce actualmente como un regulador esencial de la homeostasis celular y tisular. Las anafilotoxinas actúan uniéndose a sus receptores en una amplia variedad de células donde ejercen efectos proinflamatorios, inmunomoduladores y metabólicos.

C3 es el componente central del sistema del complemento y los niveles sistémicos de C3 podrían reflejar el potencial de activación del complemento. C3 juega un papel importante en las enfermedades metabólicas (64). La concentración en ayunas del componente del complemento (C3) se ha asociado con síndrome metabólico, obesidad abdominal, insulinoresistencia e infarto agudo de miocardio (65). También se asocian independientemente con la incidencia de diabetes tipo 2, al menos en varones (66) y se ha descrito que C3 podría tener un papel importante en el desarrollo de complicaciones micro y macrovasculares de la diabetes (64). Además, también se ha asociado C3 con elevación de alanina aminotransferasa (marcador de disfunción hepática) e hígado graso no alcohólico (67).

El punto de unión entre C3 y adiposidad se encuentra en la capacidad del tejido adiposo de secreción de C3, así el aumento de peso se asocia con un aumento en la concentración de C3 que disminuye con la pérdida ponderal (65). Más evidencias del potencial rol de C3 en alteraciones metabólicas se encuentran en la fuerte asociación de C3, reactante de fase aguda, con los marcadores inflamatorios (68), además, la activación del complemento promueve la inflamación sistémica de bajo grado (69). Este marcador será estudiado en el presente trabajo como marcador de bajo grado de inflamación asociado con el sobrepeso y obesidad.

4. Lipemia postprandial

4.1. Fisiología de la lipemia postprandial

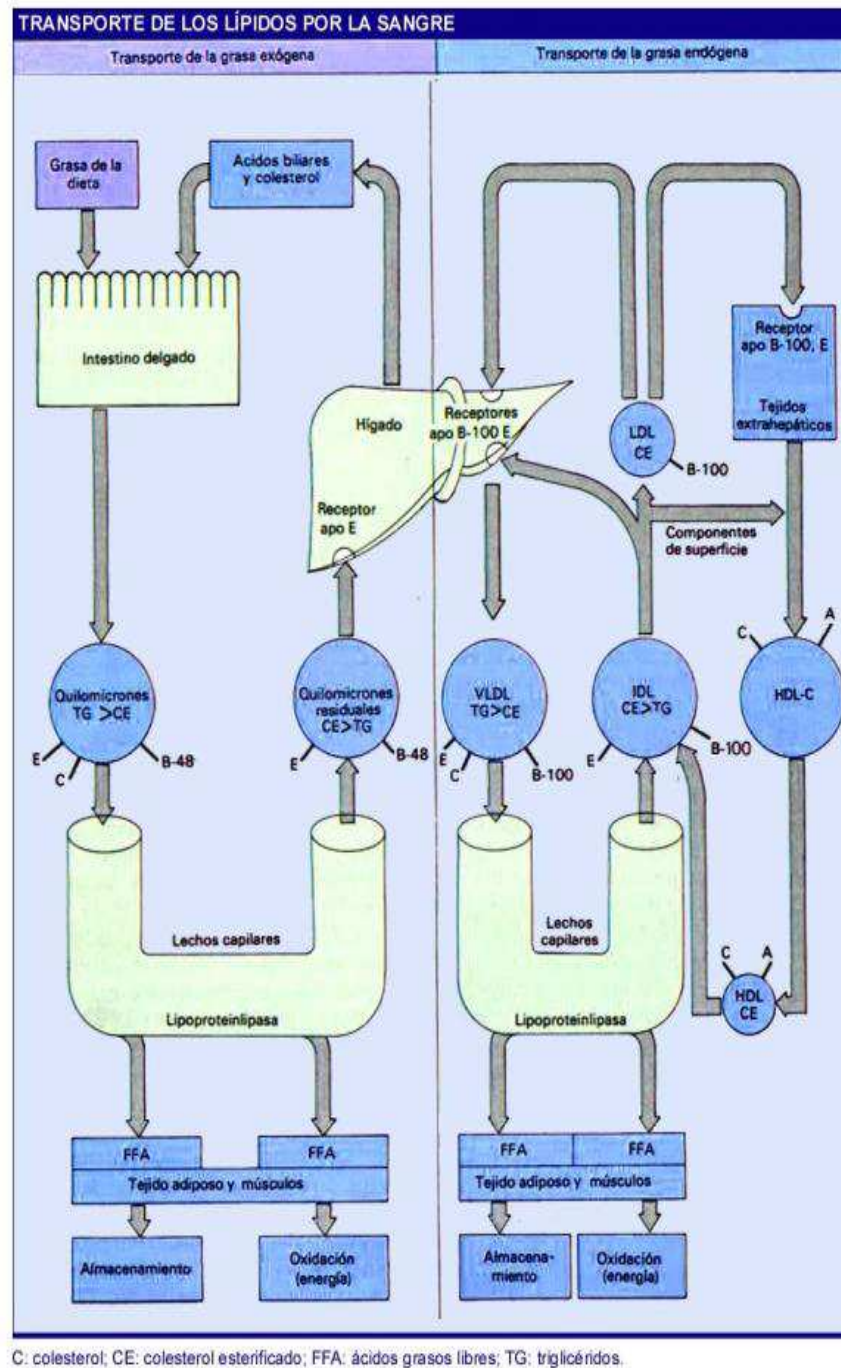
La lipemia postprandial (LPP) representa el acúmulo en plasma de partículas lipoproteicas ricas en triglicéridos (TG), incluyendo quilomicrones (QM), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), sus remanentes y también de los ácidos grasos libres (AGL), hasta aproximadamente 6-10 horas después de una comida grasa (7,70).

En situación de ayuno, los triglicéridos son transportados en la circulación principalmente en las VLDL, que contienen la apolipoproteína (apo) B100. En el

torrente sanguíneo, VLDL se convierte en remanente de VLDL o lipoproteína de densidad intermedia (IDL) por la acción de la lipoproteín lipasa (LPL) de las células endoteliales (71). La apo CII, presente en la superficie de VLDL y quilomicrones, es un cofactor necesario para la hidrólisis de los TG por la LPL. En la circulación, los remanentes de VLDL se enriquecen en apo E, el ligando preferente del *LDLR* (receptor de LDL) y del hipotético LRP (*LDLR-related protein*). En condiciones fisiológicas, las IDL son captadas por los *LDLR* hepáticos; las lipoproteínas son degradadas y el colesterol pasa a formar parte de las secreciones biliares siendo eliminado del organismo. Otra parte de estas IDL, se convierten en LDL por la acción de diversas enzimas localizadas en los sinusoides hepáticos, tales como la lipasa de TG hepática (HTGL). En el período postprandial, VLDL y quilomicrones (con apo B100 y apoB48, respectivamente como proteínas estructurales) contribuirán a la LPP (72). Los quilomicrones son lipoproteínas ricas en triglicéridos sintetizadas y secretadas por los enterocitos para transportar la grasa procedente de la dieta a los tejidos periféricos. Una vez en el torrente sanguíneo, existe también una transferencia de apo CII desde las HDL, que actúa como cofactor de la LPL, y facilita la unión de los QM en la superficie endotelial para descargar su masivo contenido de triglicéridos a los tejidos periféricos. Tras esta hidrólisis parcial, los QM adquieren el tamaño adecuado para ser captado por los receptores hepáticos dependientes de Apo E. Estos lípidos pueden ser almacenados o pasan nuevamente a circulación en forma de VLDL (figura 5).

Figura 5. Transporte exógeno y endógeno de los lípidos plasmáticos.

Hiperlipoproteinemias: concepto clasificación, patogenia y diagnóstico. En: Carmena R, editor. *Hiperlipoproteinemias, clínica y tratamiento.* Barcelona: Doyma, 1990; 17-27.



4.2. Lipemia postprandial y arteriosclerosis

La hipertrigliceridemia en ayunas está bien establecida desde hace muchos años como factor de riesgo independiente de arteriosclerosis (73). En este sentido, el estudio Framingham ya mostró una correlación entre los factores de riesgo cardiovascular y los triglicéridos contenidos en las VLDL (74) y meta análisis posteriores demostraron la contribución de los triglicéridos a los procesos ateroscleróticos independientemente del HDL y otros parámetros (75).

Los cambios en los hábitos dietéticos en la sociedad occidental promueven el reparto y aumento de número de las ingestas diarias y eso supone que la mayoría de individuos pasen la mayor parte del día en situación postprandial por lo que el estudio de la lipemia en situación postprandial sea más fisiológico y extrapolable. La implicación de la LPP en el desarrollo de ECV es conocida desde hace tiempo. En 1979 Zilversmit definió la AE como un fenómeno postprandial, sugiriendo que la interacción de las lipoproteínas postprandiales con la LPL arterial constituye un fenómeno aterogénico (76). Posteriormente se demostró que la pared íntima media de la carótida se correlacionaba con algunas medidas postprandiales (77). Además, estudios en cultivos celulares han evidenciado que los quilomicrones y las VLDL son citotóxicos para las células endoteliales (78). Estudios epidemiológicos han contribuido a verificar esta hipótesis puesto que la trigliceridemia a las 3-4 horas tras una comida distinguía mejor entre el desarrollo de cardiopatía isquémica (CI) que la trigliceridemia en ayunas (79). Posteriormente se ha demostrado que los valores de triglicéridos postprandiales se relacionan de forma independiente con episodios de CI y mortalidad (80,81). Estos estudios, realizados por distintos grupos, demuestran que la LPP alterada está asociada con el desarrollo precoz de AE siendo un factor de riesgo cardiovascular aun en ausencia de hipertrigliceridemia en ayunas (82). Estos resultados son esperables dado que la mayor parte del día (se ha estimado que aproximadamente 20 horas) el sujeto lo pasa en situación postprandial, y la medida de TG en ayunas infravalora la carga total de TG circulantes a la que un individuo está expuesto. Existen pruebas de que el 40% de todos los pacientes con enfermedad arterial coronaria prematura presentan niveles normales de lípidos en ayunas, pero disminución en el aclaramiento de lipoproteínas en situación postprandial (6). Además, esta disminución en el aclaramiento de lipoproteínas está aumentada en sujetos con alto riesgo cardiovascular; obesidad abdominal, diabetes y síndrome metabólico (6,7).

4.3. Lipemia postprandial, estrés oxidativo e inflamación

Los mecanismos por los que la lipemia postprandial conduciría al desarrollo de arteriosclerosis implican necesariamente al EO y la inflamación. La ingestión de comida crearía un estado prooxidante que se acompaña de un incremento de los

biomarcadores de inflamación, moléculas de adhesión celular y disfunción endotelial, estando todos estos factores implicados en la génesis de la arteriosclerosis (83).

La hiperlipemia postprandial podría actuar como factor inductor de EO y activar factores proinflamatorios relacionados con la patogenia y progresión de la arteriosclerosis. En situación postprandial, los lípidos y lipoproteínas circulantes pueden modular el EO (6,11). En estado postprandial, cuando se elevan los triglicéridos y la glucosa, aumenta el recuento de neutrófilos junto con la producción concomitante de citoquinas proinflamatorias y aumento de estrés oxidativo (84). Además, en sujetos sanos y en pacientes con aterosclerosis prematura, la lipemia postprandial se ha asociado el aumento de la activación linfocitaria (85,86) y se ha visto que la apo B se une a neutrófilos y monocitos, transportando estos leucocitos los ácidos grasos dietéticos (87). También se han evidenciado incrementos en la concentración de citoquinas proinflamatorias como IL6, IL8 y TNF α durante el periodo postprandial relacionándolos con los niveles de triglicéridos postprandiales (88).

Esto abre la posibilidad que la activación directa de los leucocitos ocurra en la sangre por la interacción con los quilomicrones y sus remanentes, desencadenando un aumento de citoquinas y ROS y aumentando la adherencia al endotelio de las células inflamatorias iniciando así la AE (89).

El aumento de la LPP también se ha relacionado con la activación del sistema del complemento, además del aumento en la expresión postprandial de marcadores de activación leucocitaria y la activación de genes pro-inflamatorios en las células endoteliales. Especialmente, el componente C3 del complemento muestra una estrecha correlación con la lipemia postprandial (89). En este sentido, la concentración de C3 postprandial predijo la insulinoresistencia y fue mayor en hombres con hiperlipidemia familiar combinada comparado con mujeres (90–92). Las concentraciones de C3 postprandiales aumentaron tanto en sujetos sanos como en pacientes con enfermedad coronaria y disminuyeron con el tratamiento con estatinas (93).

4.4. Efecto de los diferentes ácidos grasos dietéticos sobre la oxidación e inflamación

El patrón de alimentación cuantitativo y cualitativo de los sujetos influye en el riesgo cardiovascular. Desde hace tiempo se conoce que dietas ricas en grasa saturada se asocian a un perfil de riesgo cardiovascular adverso, con mayores niveles de colesterol, glucemia y tensión arterial, frente a poblaciones con ingestas ricas en grasas monoinsaturadas y poliinsaturadas (94). Además, la dieta

mediterránea, rica en aceite de oliva, ha demostrado reducir el riesgo cardiovascular independientemente de los factores clásicos de riesgo cardiovascular (95). Los beneficios asociados al consumo de aceite de oliva podrían contribuir a explicar la baja tasa de mortalidad cardiovascular encontrada en los países europeos mediterráneos en comparación con otros países occidentales a pesar de la prevalencia elevada de factores de riesgo cardiovascular (96). Este efecto beneficioso de los alimentos ricos en ácidos grasos mono y poliinsaturados se cree que está mediado por una variedad de mecanismos que incluyen una mayor protección antioxidante y una regulación de los procesos inflamatorios y trombogénicos (97).

El estudio PREDIMED demostró que el seguimiento de una dieta mediterránea, rica en aceite de oliva o en nueces, disminuía los niveles de LDLox y MDA frente a una dieta con bajo contenido en grasa (98). Adicionalmente, el consumo de frutas, cereales, aceite de oliva y nueces en sujetos con alto riesgo cardiovascular, se ha asociado a disminución de marcadores inflamatorios séricos relacionados con la disfunción endotelial, tales como PCR, IL-6, ICAM y VCAM (99).

Las intervenciones dietéticas mediante comidas de prueba y sobrecargas orales grasas (SOGr) en sujetos sanos han demostrado que el tipo de grasa puede regular el EO (6,7).

Estos estudios pretenden determinar el nivel de lipemia postprandial y el grado de inflamación y oxidación tras una ingesta grasa. La falta de estandarización y diferente metodología empleada en cuanto a la composición y cantidad de grasa de la comida de prueba ha impedido obtener resultados homogéneos y concluyentes.

Estudios con SOGr rica en ácidos grasos saturados han mostrado un aumento postprandial de los marcadores de inflamación, tales como TNF- α , IL6 y moléculas de adhesión (85,100). Otros autores han descrito disfunción endotelial y aumentos de EO por depleción de sistemas enzimáticos antioxidantes tras una SOGr rica en grasa saturada a pesar de no obtener variaciones significativas en marcadores de inflamación sistémica como PCR y moléculas de adhesión (101). Adicionalmente, se ha mostrado que el EO generado por una lipemia postprandial alterada puede dañar la función endotelial (6). Además, en estudios con comidas de prueba tanto la hipertrigliceridemia como la hiperglucemia postprandial tienen efectos adversos sobre la función endotelial y los marcadores de inflamación mediados por el EO (102). Después de una comida con alto valor energético, rica en carbohidratos y/o grasas saturadas, la producción de ROS aumenta en relación al grado de hiperglucemia y/o hiperlipemia (11).

Una comida rica en grasa saturada induce EO y altera la función endotelial en sujetos sanos. Adicionalmente, es conocido el papel protector de las grasas

insaturadas en el proceso de la arteriosclerosis. Estudios de intervención dietética en sujetos sanos han mostrado que estas grasas pueden disminuir la inflamación y el EO. Así, entre los trabajos realizados utilizando grasa insaturada se han objetivado descensos en las LDLox y en las citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión (sTNF-R, sICAM-1, sVCAM1) después de comidas ricas en aceite de oliva y nueces tanto en sujetos hipercolesterolémicos como en controles (103). Por otro lado, se han descrito efectos beneficiosos sobre el EO cuando se utiliza grasa insaturada comparada con grasa saturada (6,7). También sabemos que en sujetos sanos, una dieta rica en ácidos grasos mono y poliinsaturados se asocia con disminución en la expresión postprandial de citoquinas proinflamatorias comparada con una dieta rica en ácidos grasos saturados (104).

4.5. Efecto del género en la lipemia postprandial

En relación al efecto del género en la LPP, las mujeres tienen un área debajo de la curva (AUC) de trigliceridemia menor comparada con los hombres, siendo la diferencia mayor entre mujeres y hombres con síndrome metabólico (105). Adicionalmente, los hombres con síndrome metabólico presentan un aclaramiento de trigliceridemia postprandial más retrasado comparado con las mujeres con síndrome metabólico (106). Por contra, algunos datos indican que la concentración de estradiol no tiene un efecto significativo en la trigliceridemia postprandial, ni en los biomarcadores de EO ni de inflamación en una muestra de mujeres jóvenes sanas (107). Otro estudio sugiere que el efecto del género en la LPP se debe al acúmulo de tejido adiposo visceral (108).

Pocos estudios han comparado el EO postprandial y la capacidad antioxidante entre hombres y mujeres (105,107). Algunos estudios se han centrado en el EO inducido por el ejercicio físico, y la mayoría de los trabajos han utilizado poblaciones de más edad, incluyendo mujeres postmenopáusicas y hombres apareados por edad con la finalidad de investigar la potencial influencia de los estrógenos en el EO. Se han descrito niveles postprandiales de EO (MDA y H_2O_2) menores en mujeres comparado con hombres (109) postulándose como uno de los mecanismos asociados con el riesgo cardiovascular disminuido en mujeres comparado con hombres. No obstante, no son bien conocidos los efectos de la grasa insaturada en situación postprandial en marcadores de EO y oxidación y no están descritas las diferencias entre géneros.

4.6. Efecto de los parámetros metabólicos en la lipemia postprandial

Datos de estudios previos de nuestro grupo indican que en población sana el AUC de trigliceridemia capilar (TGc) diurna como expresión del grado de lipemia postprandial fue mayor en hombres, mujeres postmenopáusicas y mujeres con

obesidad abdominal comparado con mujeres premenopáusicas sanas. Los predictores mayores del AUC de TGc diurna fueron la edad, género e IMC (110,111). Por tanto, el IMC es un predictor de lipemia postprandial.

Recientemente se ha demostrado que los pacientes dislipémicos tienen mayor concentración de marcadores de EO en ayunas (112) y que la SOGr con grasas insaturadas disminuye el EO en estos pacientes. Además, el efecto beneficioso fue mayor que el obtenido en sujetos normolipídemicos y normoglucémicos (113). Estos resultados probablemente indican que los sujetos con niveles más altos de EO e inflamación crónica de bajo grado en ayunas obtendrían una mejor respuesta postprandial usando grasa insaturada.

Existen numerosos trabajos que muestran que sujetos con sobrepeso u obesidad (114) y alteraciones del metabolismo hidrocarbonado (115) tienen mayores valores de marcadores de EO e inflamación de bajo grado en ayunas y situación postprandial. No obstante, existen pocos datos sobre el efecto de la grasa insaturada en situación postprandial en relación al IMC en los valores de EO e inflamación de bajo grado en sujetos normolipídemicos no diabéticos.

II. Hipótesis y objetivos

II. Hipótesis y objetivos

La arteriosclerosis es la principal causa de las ECV y está relacionada, entre otros, con múltiples factores que son marcadores de inflamación crónica de bajo grado y de estrés oxidativo. Estos factores contribuyen desde su inicio en el desarrollo de la disfunción endotelial.

Por otro lado, la LPP alterada está asociada con el desarrollo precoz de AE, siendo un factor de riesgo cardiovascular aun en ausencia de hipertrigliceridemia en ayunas. Dado que la mayor parte del día el sujeto lo pasa en situación postprandial, la medida de la lipemia en ayunas infravalora la carga total de lípidos circulantes a la que un individuo está expuesto. Además, la LPP ha mostrado ser mejor predictor de futuros episodios cardiovasculares que la lipemia en ayunas. Los mecanismos por los que la lipemia postprandial conduciría al desarrollo de arteriosclerosis implican necesariamente al EO y la inflamación en situación postprandial.

La lipemia postprandial, los marcadores de estrés oxidativo (EO) y el componente C3 del complemento como marcador de inflamación crónica de bajo grado están más elevados en hombres que en mujeres y en personas con sobrepeso comparadas con población con normopeso.

Por otro lado, es conocido el papel protector de las grasas insaturadas en el proceso de la arteriosclerosis. En estudios de intervención dietética las grasas insaturadas han mostrado disminución de TG, marcadores de EO e inflamación en diferentes poblaciones. Sin embargo, la respuesta postprandial de C3 después de una sobrecarga oral con grasa insaturada es poco conocida. Además, tampoco son bien conocidos los efectos de la grasa insaturada en situación postprandial en los marcadores de EO y de inflamación de bajo grado en sujetos sanos no obesos, normolipídicos no diabéticos.

Datos de nuestro grupo(112,113) muestran que sujetos hiperlipídicos se benefician de forma más amplia en fase postprandial utilizando grasa insaturada que los sujetos sanos.

Basándonos en lo anteriormente comentado, nuestra **hipótesis de trabajo** es:

En situación postprandial durante una sobrecarga oral con grasa insaturada debería obtenerse un descenso mayor en los marcadores de EO y valores de inflamación crónica de bajo grado en hombres comparado con mujeres y en personas con sobrepeso comparado con población con normopeso.

Con esta hipótesis se establecen los siguientes **objetivos**:

Objetivo general

Estudiar los niveles de EO y de inflamación crónica de bajo grado en ayunas y en situación postprandial en sujetos normoglucémicos, normolipidémicos y no obesos.

Objetivos específicos

1. Determinar los niveles de GSH, GSSG, MDA, LDLox, moléculas de adhesión endotelial (VCAM e ICAM) y C3 en plasma en ayunas y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras una SOGr con grasa insaturada en sujetos sanos, normolipidémicos no diabéticos.
2. Estudiar el efecto del género en los marcadores de EO (GSH, GSSG, MDA y LDLox), del marcador de inflamación crónica de bajo grado componente C3 del complemento y moléculas de adhesión endotelial en situación postprandial tras una SOGr con grasa insaturada.
3. Comparar entre sujetos con normopeso y sobrepeso la respuesta de los marcadores de EO, del marcador de inflamación crónica de bajo grado componente C3 del complemento y de las moléculas de adhesión endotelial en situación postprandial tras una SOGr con grasa insaturada.

III. Sujetos y métodos

III. Sujetos y métodos

Sujetos

Se estudiaron 32 sujetos (16 mujeres y 16 hombres) sanos con normoglucemia (glucemia en ayunas <110 mg/dl), normolipidemia (Colesterol total (CT) en ayunas <200 mg/dl y TG en ayunas <150 mg/dl) no obesos (Índice de masa corporal (IMC) <30 kg/m². Un total de 39 sujetos fueron seleccionados por muestreo aleatorio entre donantes de plasma, investigadores, miembros de nuestro Centro (Hospital Clínico Universitario de Valencia) y estudiantes en prácticas del Servicio de Endocrinología y Nutrición de nuestro Hospital. 7 sujetos fueron excluidos por presentar IMC >30 kg/m². Todos los sujetos eran de raza caucásica y residían en la provincia de Valencia.

Los **criterios de inclusión** en el estudio fueron:

- Edad entre 18 y 50 años
- Hombre o mujer
- IMC <30 kg/m²
- Glucemia en ayunas <110 mg/dl
- CT <200 mg/dl
- TG <150 mg/dl
- Apolipoproteína B <120 mg/dl
- Genotipo E3/E3 de Apo E
- Ausencia de historia familiar o personal de dislipidemia, enfermedad cardiovascular o diabetes

Los **criterios de exclusión** del estudio fueron:

- Fluctuaciones ponderales mayores al 10% del peso corporal total en los tres meses previos al estudio.
- Seguimiento de dietas hipocalóricas para la reducción de peso.
- Medicación que interfiera con los parámetros estudiados (fármacos hipolipemiantes, vitaminas, suplementos antioxidantes, AINES) o cualquier

fármaco capaz de modificar el perfil lipídico o situación de EO e inflamación y no pueda ser retirado 6 semanas antes del estudio.

- Ingesta de alcohol mayor de 30 g alcohol/día.
- Tabaquismo activo, independientemente del número de cigarrillos/día, o exfumador desde hace menos de 12 meses.
- Embarazo o lactancia en los 3 meses previos al estudio.
- Enfermedad neoplásica metastásica.
- Antecedentes personales de amenorrea o síndrome de ovario poliquístico.
- Menopausia.
- TSH > 10 mU/ml.
- Creatinina sérica > 2 mg/dl o insuficiencia renal terminal en diálisis.
- Enfermedad hepática (elevación de transaminasas x 2 veces superior al valor máximo de nuestro laboratorio, diagnóstico de hepatitis aguda, crónica o cirrosis).
- Colestasis, definida por valores de gamma glutamil transpeptidasa (GGT) > 32 mU/ml, bilirrubina directa > 0,2 mg/dl y fosfatasas alcalinas > 250 mU/ml; (valores máximos de nuestro laboratorio).
- Ejercicio con frecuencia mayor de 4 horas semanales.
- Cualquier proceso de tipo infeccioso, inflamatorio o alérgico que acontezca en el momento del estudio o durante las 6 semanas previas.

Métodos

La recogida de parámetros clínicos y antropométricos fue realizada por el mismo investigador. Se aplicó un protocolo de estudio donde se recogieron los siguientes parámetros clínicos, antropométricos, bioquímicos y genéticos:

Parámetros clínicos:

- Registro del hábito tabáquico con recogida de nº de cigarrillos/día. En caso de ser exfumador se registró el nº de cigarrillos/día fumados, el nº de años en que se mantuvo el hábito y el año en que se abandonó el consumo.
- Consumo de alcohol con registro de gramos/día.
- Ejercicio físico, reflejando las horas por semana.

- Fármacos de consumo habitual u ocasional, vitaminas o suplementos antioxidantes que coincidieron con el periodo de estudio.
- Procesos de tipo inflamatorio, infeccioso o alérgico padecidos.
- Problemas cardiovasculares presentados hasta la fecha de inclusión.
- Determinación de la presión arterial tras 10 minutos de reposo en decúbito supino, utilizando el valor medio de 3 mediciones separadas 5 minutos y realizadas con un esfigmomanómetro de mercurio.

Parámetros antropométricos:

- Peso en kilogramos (kg) mediante una báscula romana, la talla en metros (m) y el índice de masa corporal (IMC) en kg/m^2 .
- Perímetro de la cintura: medida en el punto medio entre la espina ilíaca anterosuperior y el margen costal inferior. La medida se obtuvo con una cinta métrica graduada en centímetros (cm) estando el sujeto en bipedestación.

Parámetros bioquímicos y genéticos:

Después de 12 horas de ayuno, las muestras de sangre periférica se obtuvieron de la vena antecubital en tubos EDTA (Vacutainer) y fueron centrifugadas durante 4 horas. El plasma se guardó a 4°C durante un máximo de 3 días. Los valores de las distintas fueron obtenidos con métodos estandarizados:

- **Hemograma y bioquímica estándar.**
- **Medición de lípidos y lipoproteínas:**
 - CT y TG mediante técnicas enzimáticas estandarizadas (116).
 - Lipoproteínas de colesterol de alta densidad (cHDL) tras precipitación de las lipoproteínas que contenían apo B con polianiones (117).
 - Lipoproteínas de colesterol de muy baja densidad (cVLDL) tras separación de VLDL ($d < 1.006 \text{ g/mL}$) por ultracentrifugación (118).
 - Lipoproteínas de baja densidad (cLDL) se calculan mediante resta de cVLDL y cHDL del CT utilizando la fórmula de Friedewald (119).
 - Apoproteínas A y B por inmunoturbimetría (120).

Los coeficientes de variación para los lípidos y las lipoproteínas fueron < 5% en nuestro laboratorio.

– **Metabolismo glucídico:**

- Glucosa en ayunas por método enzimático de glucosa oxidasa.
- Insulinemia por ensayo mediante inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).
- El índice HOMA (Homeostasis model assessment) se calculó según la fórmula descrita por Matthews et al (121). Índice HOMA = (insulina (mU/ml) x [glucosa (mmol/l)/ 22,5]).

– **Valores plasmáticos de C3:**

El método empleado para la determinación de C3 fue la inmunonefelometría mediante un nefelómetro BNII de “Siemens Healthcare Diagnostics”, que emplea un anticuerpo unido a látex dirigido al fragmento C3c.

– **Valores de estrés oxidativo:**

Los marcadores de EO se determinaron en linfo-monocitos aislados circulantes mediante métodos Ficoll-Hypaque previamente reportados (112,122). La medición de glutatión reducido (GSH) y glutatión oxidado (GSSG) y la relación GSSG/GSH se determinó en linfo-monocitos circulantes mediante cromatografía de alta presión (HPLC) y detección ultravioleta (123).

VCAM e ICAM se determinaron utilizando kits Human Multiplex (Linco) mediante el sistema Luminex LABScan[®] 100. Las curvas estándar para cada quimioquina se generaron utilizando las concentraciones de citoquinas provistas en el kit. La incubación se realizó a temperatura ambiente y en la oscuridad para preservar las muestras.

La determinación de LDLox se realizó mediante inmunoensayo enzimático para la medición cuantitativa de anticuerpos anti-LDLox de IMTEC[®].

– **Análisis genéticos:**

Determinación del genotipo de la Apo E con PCR y posterior digestión enzimática en todos los sujetos (32).

Diseño

Estudio comparativo en ayunas y en el periodo postprandial entre sujetos de ambos géneros y entre sujetos con normo- ($<25 \text{ kg/m}^2$) y sobrepeso ($<30 \text{ kg/m}^2$). El estudio se realizó en el periodo comprendido entre 2010 y 2012.

Se compararon los valores obtenidos de EO, del marcador de inflamación crónica de bajo grado componente C3 del complemento y de moléculas de adhesión entre grupos (ambos géneros y entre los sujetos con normopeso y sobrepeso) e intragrupo para ver el efecto postprandial de la intervención en los parámetros biológico comentados.

Tras explicar el estudio y sus objetivos, los sujetos seleccionados firmaron un consentimiento informado. Se les realizó un cuestionario clínico junto con una extracción sanguínea en ayunas para la determinación de parámetros bioquímicos generales y el análisis genético de apoE. A los sujetos que cumplieron todos los criterios de inclusión y ninguno de exclusión, se les realizó entonces un periodo de lavado de 6 semanas en que se retiró la medicación que suponían un criterio de exclusión para el estudio al interferir con los parámetros estudiados: fármacos hipolipemiantes, vitaminas, suplementos antioxidantes, AINES o cualquier fármaco capaz de modificar el perfil lipídico o situación de EO e inflamación.

Durante este periodo de lavado, los sujetos fueron instruidos para mantener su dieta y estilo de vida habituales.

Además, se instruyeron para realizar ejercicio físico y mantener un estilo de vida similar durante el estudio.

La SOGr se realizó en la Unidad de Pruebas Funcionales del Servicio de Endocrinología y Nutrición del Hospital Clínico Universitario de Valencia. Los sujetos mantuvieron un ayuno de 12 horas antes de la prueba y realizaron una cena pobre en grasas el día previo ($<10 \text{ g}$ grasa). Se evitaron la toma de alcohol y la práctica de ejercicio físico el día previo a la prueba.

A las 8:30 horas se midieron los parámetros antropométricos, se realizó una toma de tensión arterial y se canalizó una vía venosa periférica, permaneciendo posteriormente en reposo durante un mínimo de 30 minutos. A las 9:00h se realizó una extracción sanguínea basal y se administró una sobrecarga oral estandarizada de grasa mediante la ingesta durante 5-10 minutos de un preparado comercial de triglicéridos de cadena larga (Supracal[®]; SHS International Ltd. Módulo nutricional lipídico comercializado) (Tabla 5). Cada 100 ml contienen 50 g de grasa (450 Kcal), de los cuales 9,6 g son grasas saturadas, 28,2 g son grasas monoinsaturadas y 10 g son grasas poliinsaturadas. La relación $\omega 6/\omega 3$ es $> 20/1$.

La dosis ingerida fue de 50 g de grasa por m² de superficie corporal. Tras la ingesta y durante todo el estudio, los sujetos permanecieron sentados o en decúbito supino y sólo se les permitió la ingesta de agua mineral. Las muestras de sangre periférica se obtuvieron en tubos EDTA a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOGr para la determinación de los parámetros bioquímicos señalados anteriormente.

Tabla 5. Composición Supracal[®] sabor neutro

Supracal[®]: SHS international Ltd.

Módulo nutricional lipídico de triglicéridos de cadena larga (LCT) en forma de emulsión 50%.

Composición: por 100 ml (fuente: aceites vegetales)

- -Kcal: 450
- -Lípidos g: 50
 - -saturados g: 9,6
 - -monoinsaturados g: 28,2
 - -poliinsaturados: 10
- -% LCT: 100%
- -Relación $\omega 6$: $\omega 3$ > 20:1
- -Na g: <10.

Perfil de ácidos grasos: g por 100g de ácidos grasos

- | | |
|-------------------------------|----|
| – Láurico (C12) | <1 |
| – Mirístico (C14) | <1 |
| – Palmítico (C16) | 10 |
| – Esteárico (C18) | 3 |
| – Oleico (C18:1) | 58 |
| – Linoleico (C18:2) | 20 |
| – α -linoleico (C18:3) | <1 |
| – Araquidónico (C20) | 1 |
| – Eicosaenoico (C20:1) | 1 |
| – Behénico (C22) | 3 |
| – Lignocérico (C24) | 1 |

Métodos estadísticos

Los datos fueron analizados utilizando el programa informatizado Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 12.1.3 for Windows; SPSS Chicago, IL, USA). Para cada variable, los datos se expresaron como media \pm desviación estándar (DE).

El tamaño muestral para el estudio se calculó teniendo en cuenta un error alfa estándar del 5%, un error beta del 20% para la obtención de un valor p de 0,05 y 80% de poder para detectar una diferencia clínicamente relevante determinada por diferencias superiores al 25% en las variables críticas postprandiales. Para ello se estimó un mínimo de 30 sujetos, 15 por grupo, apareados por edad. Esto es debido

a que la situación postprandial debería triplicar las diferencias estimadas en situación de ayuno entre géneros.

El área bajo la curva (AUC) y la diferencia del AUC se calculó utilizando programa estatagráfico.

El test de ANOVA y ANCOVA se utilizó para evaluar las diferencias en los parámetros medidos en varios intervalos de tiempo después de la SOGr entre los grupos comparados (hombres vs mujeres, normopeso vs sobrepeso). El test de Wilcoxon se utilizó para la comparación intragrupo de los valores obtenidos durante la SOGr. Las diferencias entre géneros fueron corregidas por IMC.

Se utilizaron correlaciones simples bivariadas para analizar el grado de asociación del peso y cintura con los parámetros de EO e inflamación.

IV. Resultados

IV. Resultados

1. Comparación de los parámetros en el grupo completo dividido por géneros.

1.1. Comparación de los parámetros analizados en ayunas en el grupo completo dividido por géneros.

En las tablas y figuras que se exponen a continuación se comparan las características clínicas, antropométricas y bioquímicas, así como parámetros de oxidación e inflamación. Se han estudiado un total de 16 mujeres sanas premenopáusicas y 16 hombres sanos con los criterios de inclusión y exclusión descritos.

1.1.1. Características clínicas y antropométricas.

En la tabla 6 se observan las características generales del grupo completo, como edad, IMC, cintura y presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en IMC, cintura y PAS comparando hombres y mujeres como era esperado. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en edad y PAD.

Tabla 6. Características generales del grupo completo.		
	Hombres (n=16)	Mujeres (n=16)
Edad (años)	36,4 (8,9)	35,8 (6,4)
IMC (kg/m ²)	25,5 (2,5)*	23,3 (3,1)
Perímetro de cintura (cm)	90,2 (6,3)*	82,3 (10,4)
PAS (mmHg)	119,4 (10,2)*	105,6 (10,1)
PAD (mmHg)	70,0 (5,5)	66,4 (7,9)
*p<0,05. Los datos se expresan como media (desviación estándar)		

1.1.2. Datos bioquímicos en ayunas.

En la tabla 7 se resumen los principales resultados bioquímicos en ayunas del grupo completo. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en niveles en ayunas de CT, cLDL, TG, insulinemia, índice HOMA, Apo A y Apo B. Si bien los valores en ayuno de insulina y HOMA fueron mayores en varones, no alcanzaron significación estadística. El valor de cHDL en ayunas fue

significativamente mayor en mujeres que en hombres, mientras que la glucemia en ayunas fue significativamente mayor en hombres.

Tabla 7. Valores del metabolismo glucídico y lipídico del grupo completo en ayuno.		
	Hombres (n=16)	Mujeres (n=16)
Glucosa (mg/dl)	94,4 (8,9)*	87,5 (4,5)
Insulina (μU/ml)	6,2 (3,5)	5,2 (2,4)
Índice HOMA	1,40 (0,85)	0,95 (0,54)
CT (mg/dl)	175,9 (22,5)	177,0 (31,0)
cHDL (mg/dl)	53,6 (7,5)*	65,3 (10,8)
cLDL (mg/dl)	107,8 (20,6)	98,7 (24,2)
TG (mg/dl)	72,5 (23,5)	64,5 (17,6)
Apo A (mg/dl)	124,6 (14,2)	141,9 (20,5)
Apo B (mg/dl)	83,9 (15,2)	72,91 (20,2)
*p<0,05. Los datos se expresan como media (desviación estándar)		

1.1.3. Parámetros de oxidación e inflamación en ayuno.

En la tabla 8 quedan reflejados los valores de los parámetros biológicos de oxidación e inflamación del grupo completo. Los valores de C3, GSSG y del cociente GSSG/GSH fueron significativamente mayores en hombres que en mujeres. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de VCAM, ICAM, GSH, MDA y LDLox.

Tabla 8. Parámetros biológicos de oxidación e inflamación del grupo completo.		
	Hombres (n=16)	Mujeres (n=16)
C3 (mg/dl)	105,1 (6,2)*	93,8 (7,5)
VCAM (ng/ml)	804,5 (197,0)	735,0 (302,6)
ICAM (ng/ml)	115,2 (69,5)	82,7 (54,4)
GSSG (nmol/mg prot)	0,50 (0,31)*	0,31 (0,21)
GSH (nmol/mg prot)	22,8 (2,5)	23,4 (2,3)
GSSG/GSH	0,02 (0,02)*	0,01 (0,01)
MDA (U/mg prot)	0,30 (0,37)	0,37 (0,41)
LDLox (U/L)	109,6 (13,5)	106,7 (24,7)
*p<0,05. Los datos se expresan como media (desviación estándar)		

1.2. Comparación de los parámetros analizados a nivel postprandial en el grupo completo dividido por géneros.

En las tablas y figuras que se exponen a continuación comparamos las características bioquímicas y los parámetros de oxidación e inflamación a nivel basal (ayuno) y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOGr.

1.2.1 Comparación entre géneros de los parámetros lipídicos durante la SOGr.

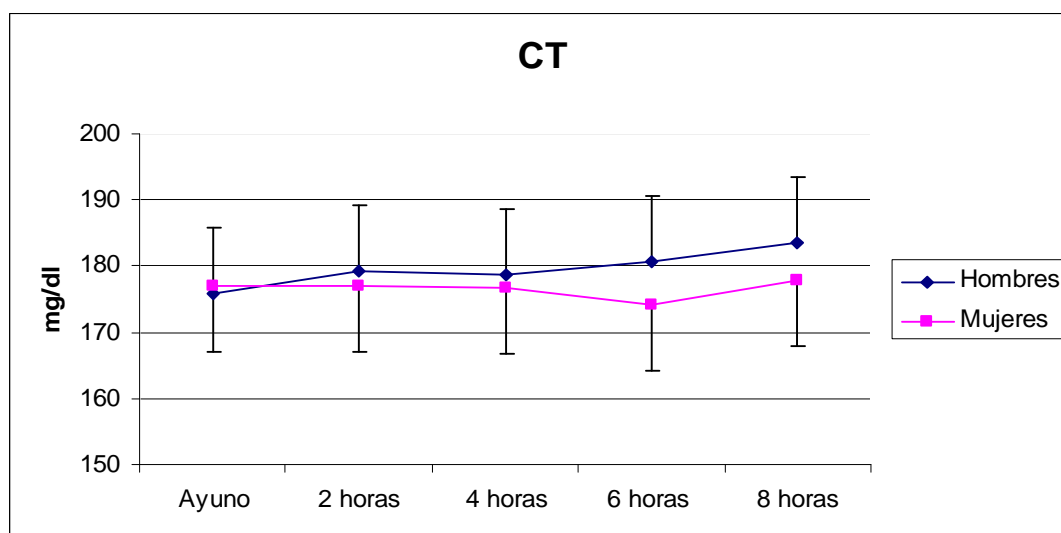
En la tabla 9 quedan reflejados los valores lipídicos del grupo completo antes y después de la SOGr. Los valores de cHDL fueron significativamente mayores en mujeres comparadas con hombres en ayunas y en todos los puntos tras la SOGr. Los niveles de Apo A fueron significativamente mayores en mujeres comparado con hombres a las 4 y 8 horas de la SOGr, sin presentar diferencias en ningún otro punto.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en los niveles de CT, cLDL y TG en ayunas y postprandiales tras la SOGr.

Tabla 9: Parámetros lipídicos en ayunas y a las 2, 4, 6 y 8 horas después de la SOGr hombres frente a mujeres.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
CT (mg/dl)	Hombres	175,9 (22,5)	179,2 (27,6)	178,7 (26,7)	180,7 (27,9)	183,4 (23,7)
	Mujeres	177,0 (31,0)	177,0 (30,7)	176,8 (23,6)	174,3 (28,5)	177,8 (27,7)
cHDL (mg/dl)	Hombres	53,6 (7,5)	52,2 (9,2)	51,5 (9,4)	51,9 (10,3)	54,2 (10,4)
	Mujeres	65,3 (10,8)*	63,4 (8,5)*	63,5 (9,7)*	62,9 (9,4)*	65,0 (9,5)*
cLDL (mg/dl)	Hombres	107,8 (20,6)	105,0 (22,8)	98,9 (22,5)	104,2 (22,1)	114,0 (20,5)
	Mujeres	98,7 (24,2)	96,3 (24,9)	92,4 (18,3)	96,0 (23,1)	100,4 (24,1)
TG (mg/dl)	Hombres	72,5 (23,5)	109,2 (29,5)	141,8 (72,8)	122,9 (81,4)	76,1 (29,7)
	Mujeres	64,5 (17,6)	87,4 (35,6)	104,6 (45,4)	77,4 (31,8)	63,0 (19,2)
Apo A (mg/dl)	Hombres	124,6 (14,2)	124,7 (18,8)	123,8 (16,9)	123,5 (18,7)	126,8 (16,9)
	Mujeres	141,9 (20,5)	140,8 (16,5)	141,0 (14,6)*	139,4 (17,5)	141,4(16,2)*
Apo B (mg/dl)	Hombres	83,9 (15,2)	82,3 (13,8)	82,8 (14,2)	82,7 (14,9)	85,0 (13,9)
	Mujeres	72,9 (20,2)	71,6 (18,9)	72,4 (16,6)	70,9 (18,6)	71,8 (29,9)
*p<0,05 comparado entre géneros en cada punto de la SOGr.						

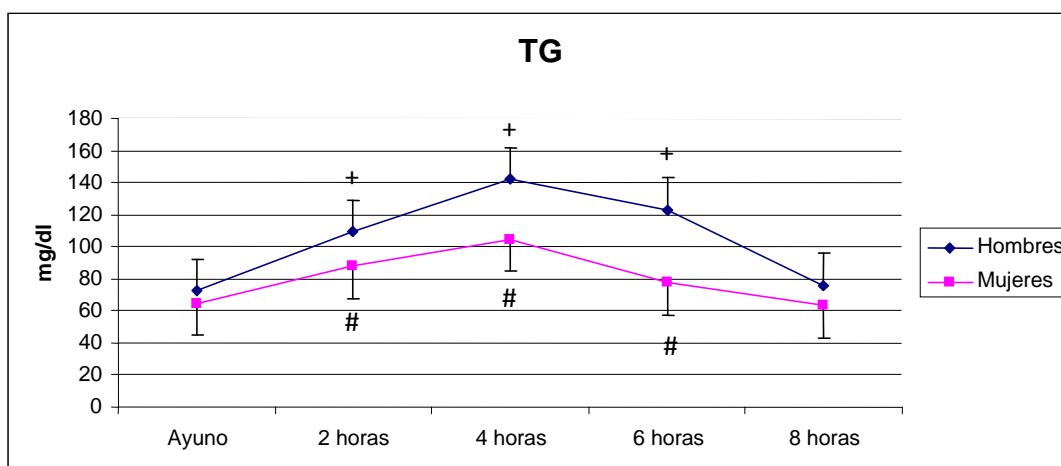
En las figuras 6 a 11 quedan reflejados gráficamente los datos anteriores junto con las áreas bajo la curva de tiempo-concentración de los lípidos en el período postprandial.

Figura 6: Comparación de los niveles de colesterol plasmático total en cada punto de la SOGr entre géneros.



No significación estadística entre hombres y mujeres en todos los puntos

Figura 7: Comparación de la trigliceridemia plasmática en cada punto de la SOGr entre géneros.

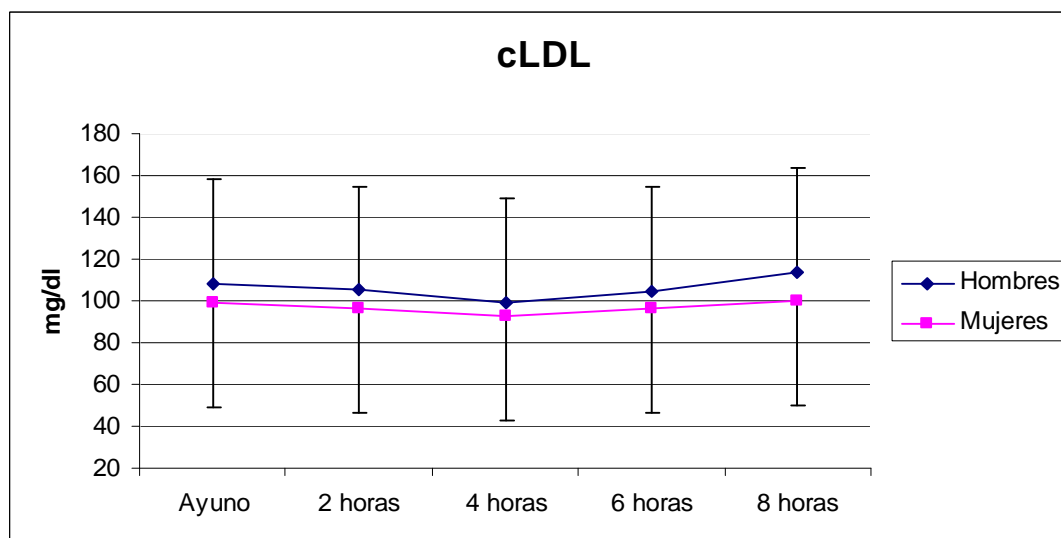


No significación estadística entre hombres y mujeres en todos los puntos

+ $p < 0,05$ comparado ayuno versus 2, 4 y 6 horas tras SOGr en hombres

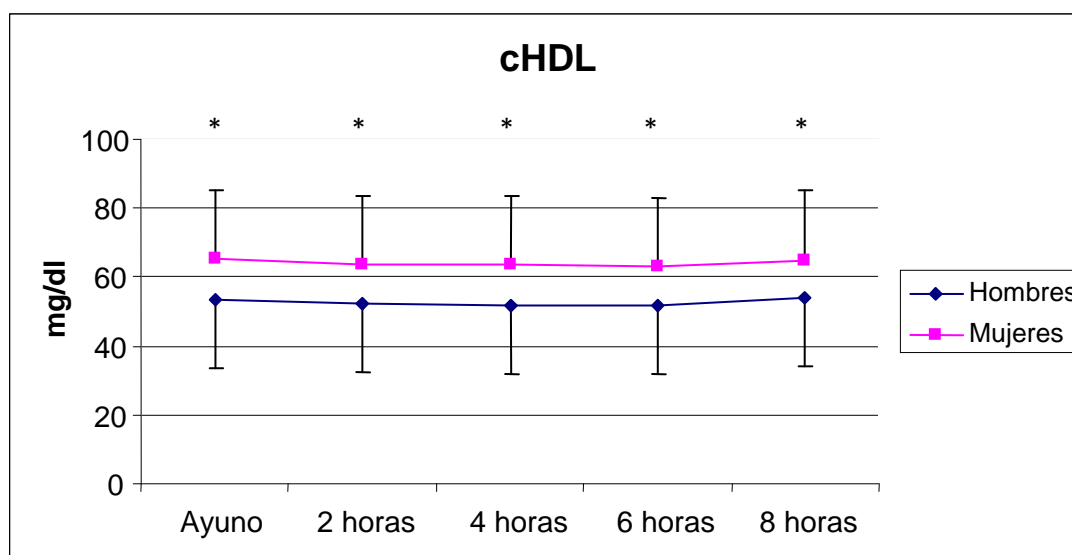
$p < 0,05$ comparado ayuno versus 2, 4, y 6 horas tras SOGr en mujeres

Figura 8: Comparación de los niveles de cLDL plasmáticos en cada punto de la SOGr entre géneros.



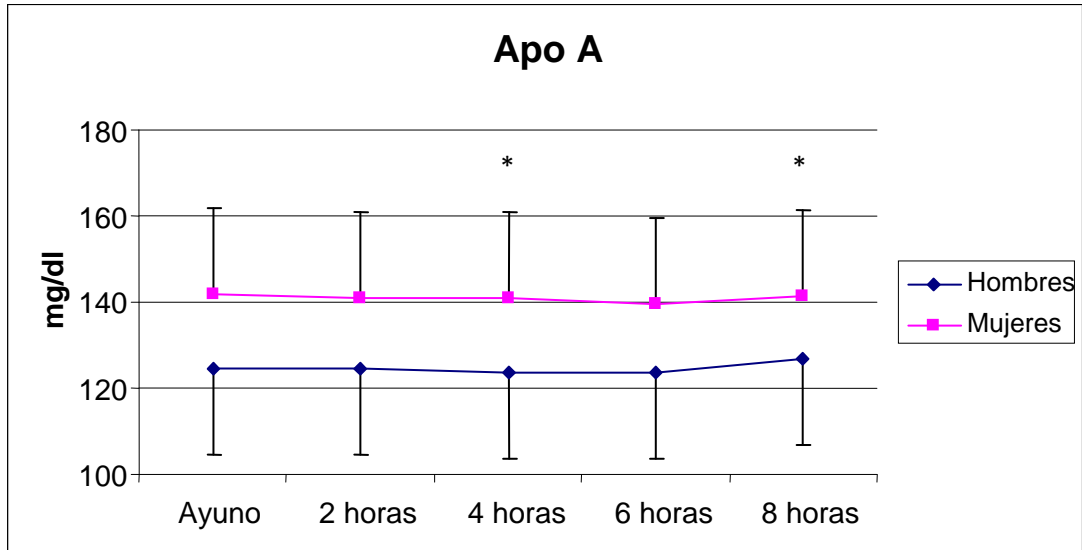
No significación estadística entre hombres y mujeres en todos los puntos

Figura 9: Comparación de los niveles de cHDL plasmáticos en cada punto de la SOGr entre géneros.



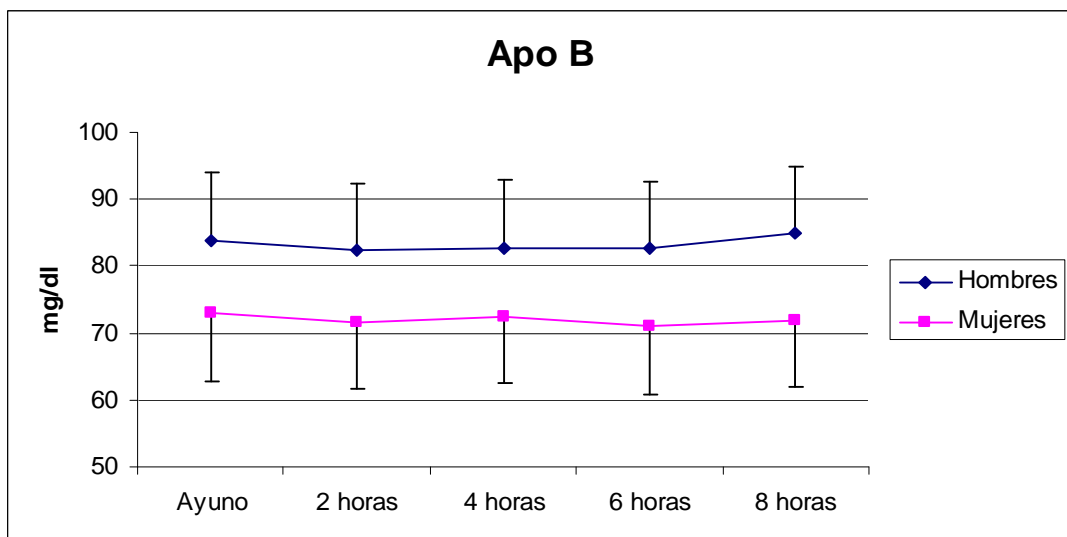
* $p < 0,05$ entre hombres y mujeres

Figura 10: Comparación de los niveles de Apo A plasmáticos en cada punto de la SOGr entre géneros.



* $p < 0,05$ entre hombres y mujeres

Figura 11: Comparación de los niveles de Apo B plasmáticos en cada punto de la SOGr entre géneros.



No significación estadística entre hombres y mujeres en todos los puntos

Tabla 10: Áreas bajo la curva y diferenciales del área bajo la curva de parámetros lipídicos en ambos grupos.			
		Hombres	Mujeres
CT (mg/dl·h)	AUC	1436,6 (205,7)	1411,0 (221,1)
	d-AUC	29,4 (71,2)	-5,1 (60,1)
TG (mg/dl·h)	AUC	896,4* (362,9)	666,6 (246,8)
	d-AUC	316,1 (228,9)	150,3 (175,3)
cLDL (mg/dl·h)	AUC	838,0 (168,3)	768,5 (179,7)
	d-AUC	-24,6 (55,8)	-21,3 (31,9)
cHDL (mg/dl·h)	AUC	419,1 (74,3)	509,5 (73,1)
	d-AUC	-10,0 (22,4)	- 12,64 (30,9)
Apo A (mg/dl·h)	AUC	995,6 (137,7)	1125,7 (128,4)
	d-AUC	-1,4 (48,2)	-9,6 (58,2)
Apo-B (mg/dl·h)	AUC	664,5 (113,6)	584,5 (139,3)
	d-AUC	-6,7 (30,2)	1,27 (34,3)
*p=0,06			

Encontramos diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en las áreas bajo la curva de TG, pero no en las AUC de CT, cLDL, cHDL, Apo A y ApoB.

No objetivamos diferencias entre ambos grupos en los diferenciales de las AUC en ningún parámetro lipídico.

2.2 Comparación entre géneros de los parámetros del metabolismo glucémico durante la SOGr.

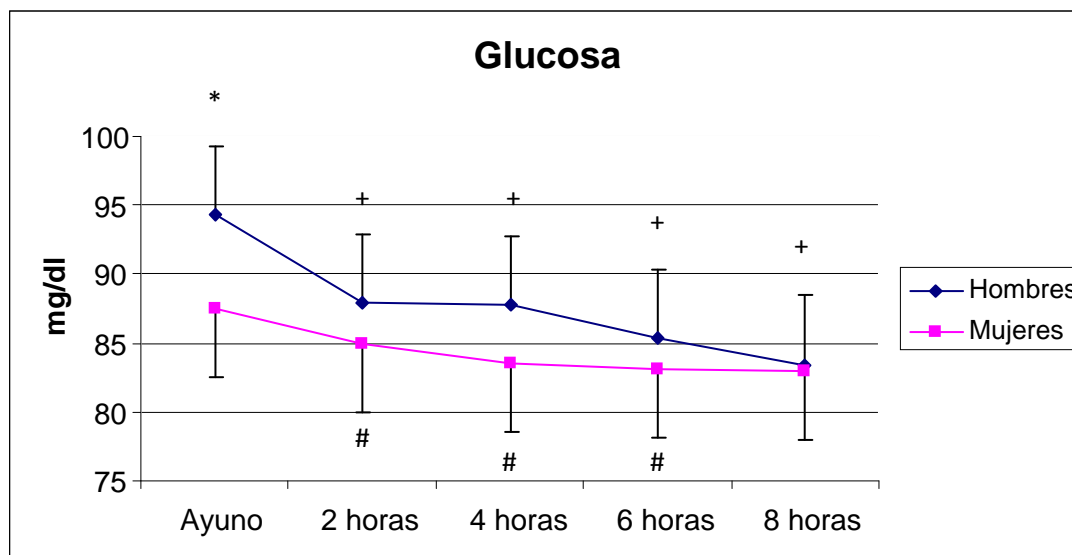
En la tabla 11 se exponen los datos de glucosa, insulina y HOMA. Las concentraciones de los tres parámetros descienden progresivamente a lo largo de la SOGr, alcanzando los valores mínimos a las 8 horas.

La glucemia fue significativamente mayor en hombres que en mujeres en ayunas pero no hubo diferencias significativa a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOGr. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de insulina a lo largo de la SOGr y el índice HOMA únicamente fue significativamente mayor en hombres comparado con mujeres a las 4 horas de la SOGr, sin presentar diferencias en ningún otro punto.

Tabla 11: Parámetros del metabolismo glucémico en ayunas y a las 2, 4, 6 y 8 horas después de la SOGr: hombres frente a mujeres.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
Glucosa (mg/dl)	Hombres	94,4 (8,9)*	87,9 (5,9)	87,7 (6,9)	85,4 (6,9)	83,4 (7,1)
	Mujeres	87,5 (4,5)	84,9 (5,3)	83,5 (5,6)	83,1 (3,4)	83,1 (4,2)
Insulina (μU/ml)	Hombres	6,2 (3,5)	5,6 (2,6)	5,2 (1,8)	3,8 (2,2)	3,1 (1,5)
	Mujeres	5,3 (2,4)	5,4 (3,6)	4,1 (3,2)	3,6 (3,3)	3,5 (1,8)
Índice HOMA	Hombres	1,5 (0,8)*	1,2 (0,5)	1,1 (0,4)*	0,78 (0,4)	0,7 (0,3)
	Mujeres	0,9 (0,5)	1,2 (0,8)	0,8 (0,7)	0,7 (0,7)	0,7 (0,4)
*p<0,05 comparado entre géneros en cada punto de la SOGr.						

En las siguientes figuras (12 a 14) están representados los parámetros del metabolismo glucémico en ambos grupos en los diferentes puntos de la SOGr.

Figura 12: Comparación de los niveles de glucemia plasmática en cada punto de la SOGr entre géneros.

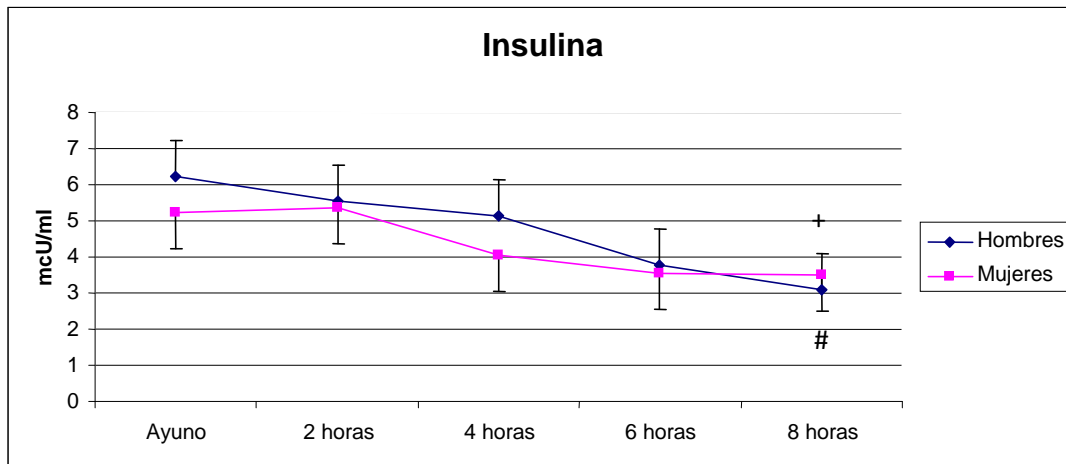


*p<0,05 entre hombres y mujeres

+p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres

#p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4 y 6 horas tras SOGr en mujeres

Figura 13: Comparación de la insulinemia plasmática en cada punto de la SOGr entre géneros.

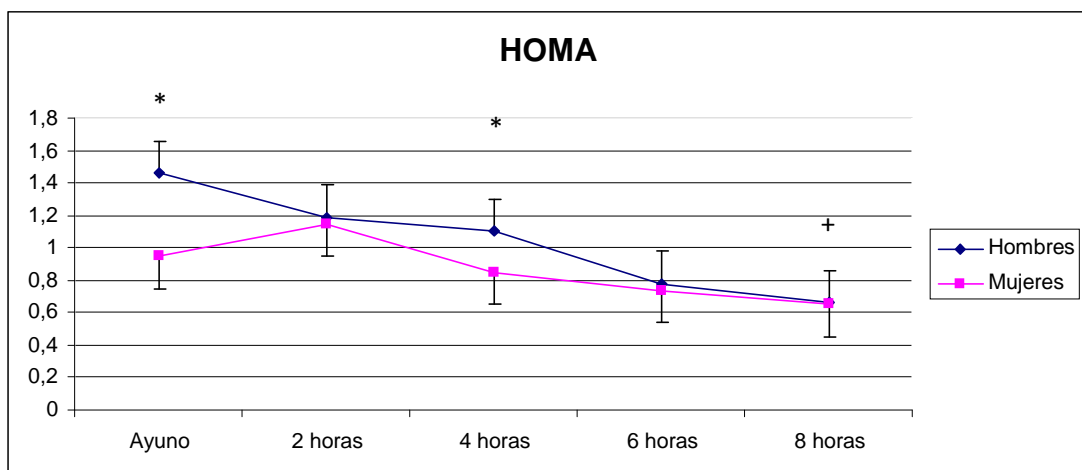


No significación estadística entre hombres y mujeres en todos los puntos

+p<0,05 comparado ayuno versus 8 horas tras SOGr en hombres

#p<0,05 comparado ayuno versus 8 horas tras SOGr en mujeres

Figura 14: Comparación de la resistencia a la insulina medida por HOMA en cada punto de la SOGr entre géneros.



*p<0,05 entre hombres y mujeres

+p<0,05 comparado ayuno versus 8 horas tras SOGr en hombres

Tabla 12. Áreas bajo la curva y diferencial del área bajo la curva de glucosa, insulina y HOMA en ambos grupos.			
		Hombres	Mujeres
Glucosa (mg/dl·h)	AUC	699,8 (50,2)	657,5 (58,3)
	d-AUC	-55,1 (46,7)*	-26,8 (24,9)
Insulina (μU/ml·h)	AUC	38,3 (14,3)	34,4 (21,4)
	d-AUC	-11,7 (20,3)	-7,1 (13,8)
HOMA	AUC	8,3 (2,9)	7,1 (4,5)
	d-AUC	-3,4 (5,3)	-0,5 (3,7)
*p=0,02			

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en los diferenciales del área bajo la curva de glucosa.

No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en las AUC de las concentraciones de glucosa, insulina y HOMA entre hombres y mujeres.

1.2.2 Comparación entre géneros de los parámetros de oxidación durante la SOGr.

En la tabla 13 quedan reflejados los valores de los parámetros de oxidación del grupo completo antes y tras la SOGr.

El cociente GSSG/GSH fue significativamente mayor en hombres comparado con mujeres en ayunas y en todos los puntos tras SOGr. Los valores de GSSG fueron mayores en hombres comparados con mujeres en ayunas y a las 2 horas tras la SOGr, pero no existieron diferencias estadísticamente significativas a las 4, 6 y 8 horas entre géneros.

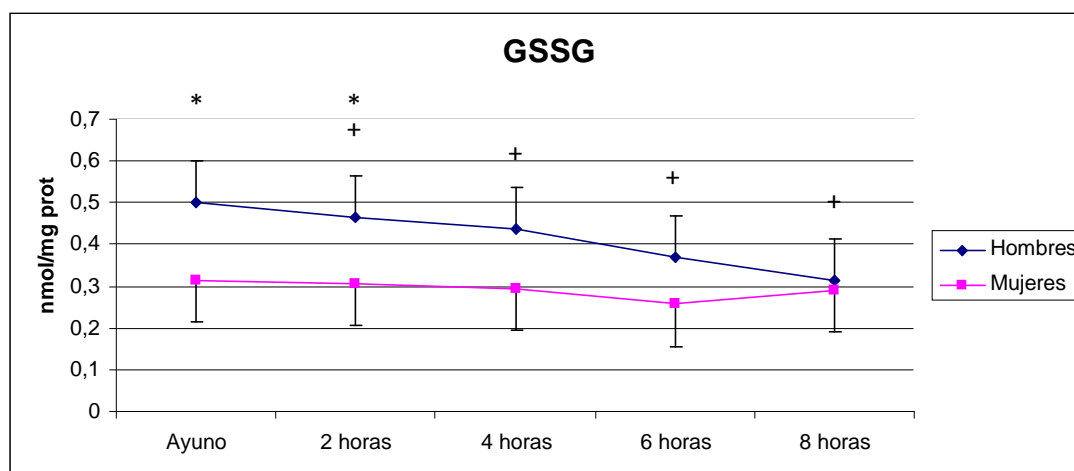
No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en los niveles de GSH, MDA y LDL oxidadas en ayunas ni durante todo el periodo postprandial tras la SOGr.

Tabla 13: Comparación de los parámetros de oxidación en cada punto de la SOGr entre géneros.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
GSSG (nmol/mg prot)	Hombres	0,50 (0,32)*	0,46 (0,27)*	0,44 (0,24)	0,37 (0,19)	0,31 (0,15)
	Mujeres	0,32 (0,22)	0,31 (0,21)	0,29 (0,19)	0,26 (0,15)	0,29 (0,16)
GSH (nmol/mg prot)	Hombres	22,80 (2,56)	23,35 (2,34)	23,41 (1,94)	24,05 (1,78)	24,62 (1,47)
	Mujeres	23,45 (2,32)	23,79 (2,12)	24,53 (1,78)	24,99 (1,28)	25,24 (0,99)

GSSG/GSH (%)	Hombres	0,024 (0,02)*	0,021 (0,02)*	0,019 (0,01)*	0,016 (0,01)*	0,013 (0,01)
	Mujeres	0,014 (0,01)	0,013 (0,01)	0,012 (0,01)	0,010 (0,01)	0,012 (0,01)
MDA (U/mg prot)	Hombres	0,37 (0,41)	0,36 (0,41)	0,35 (0,40)	0,32 (0,36)	0,26 (0,28)
	Mujeres	0,30 (0,38)	0,30 (0,37)	0,29 (0,35)	0,26 (0,31)	0,21 (0,21)
LDLox (U/l)	Hombres	109,6 (13,5)	-	-	-	121,5 (16,7)
	Mujeres	106,7 (24,7)	-	-	-	113,0 (19,1)
*p<0,05 comparado entre géneros en cada punto de la SOGr.						

En las siguientes figuras (15 a 19) están representados los marcadores de oxidación en ambos grupos en los diferentes puntos de la SOGr.

Figura 15: Comparación de GSSG en cada punto de la SOGr entre géneros.



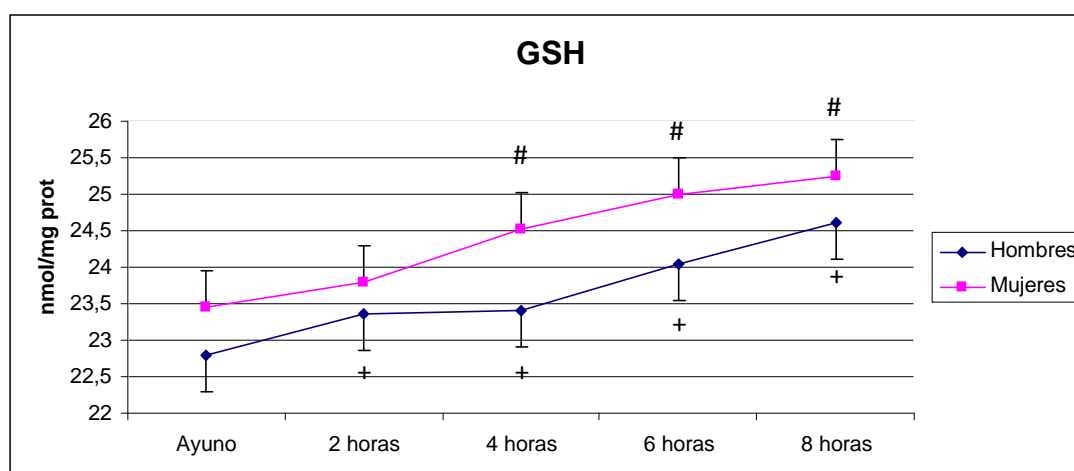
*p<0,05 entre hombres y mujeres

+p<0,01 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres

En hombres se obtuvo una disminución de GSSG estadísticamente significativa durante la SOGr (desde 0,5 nmol/mg prot en ayunas hasta 0,36 nmol/mg prot a las 4 horas y 0,31 nmol/mg prot a las 8 horas, p=0,018, p=0,005 respectivamente). Este descenso estadísticamente significativo no se observó en mujeres (0,31 nmol/mg prot en ayunas hasta 0,29 nmol/mg prot a las 4 horas y 0,29 nmol/mg prot a las 8 horas, p=0,12, p=0,32 respectivamente).

Resulta importante destacar que la diferencia estadísticamente significativa observada entre géneros en los valores de GSSG en ayunas y a las 2 horas tras la SOGr desaparece a las 4, 6 y 8 horas tras la SOGr. A las 4, 6 y 8 horas tras la SOGr no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres en los valores de GSSG.

Figura 16: Comparación de GSH en cada punto de la SOGr entre géneros.

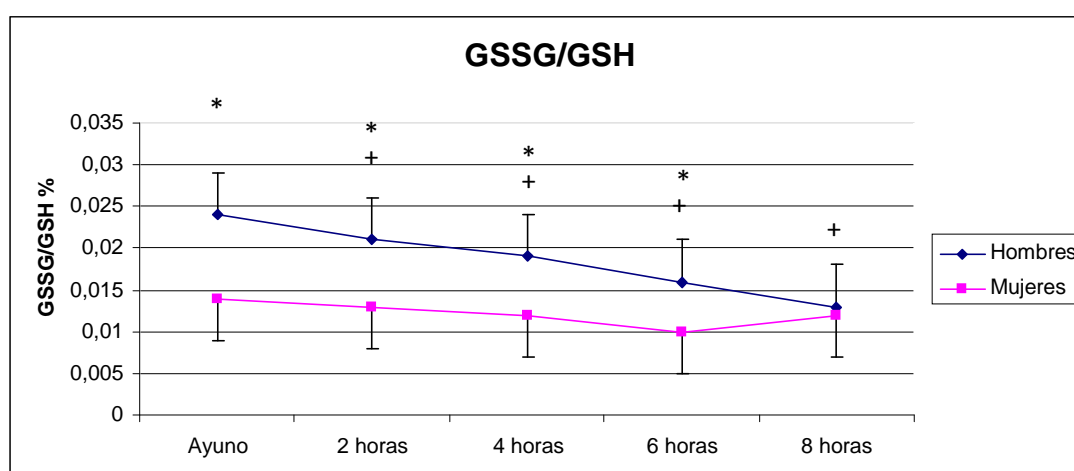


No significación estadística entre hombres y mujeres en todos los puntos
 + $p < 0,05$ comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres
 # $p < 0,05$ comparado ayuno versus 4, 6 y 8 horas tras SOGr en mujeres

En hombres y mujeres se obtuvo un aumento estadísticamente significativo en los valores de GSH después de 8 horas tras la SOGr en comparación con los valores en ayunas y a las 4 horas tras la sobrecarga.

Comparando entre hombres y mujeres los valores de GSH en los diferentes puntos tras la SOGr no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Figura 17: Comparación del cociente GSSG/GSH en cada punto de la SOGr entre géneros.

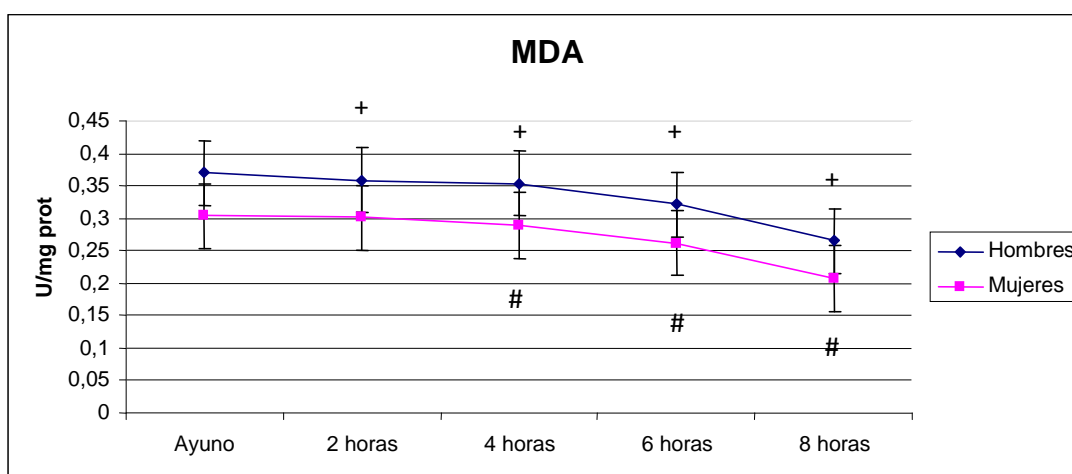


* $p < 0,05$ entre hombres y mujeres
 + $p < 0,05$ comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres

El cociente GSSG/GSH disminuyó significativamente en hombres a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOGr comparado con los valores en ayunas obteniendo una reducción del 50% (0,024% en ayunas y 0,013% a las 8 horas tras la SOGr) y este descenso no fue significativo en mujeres.

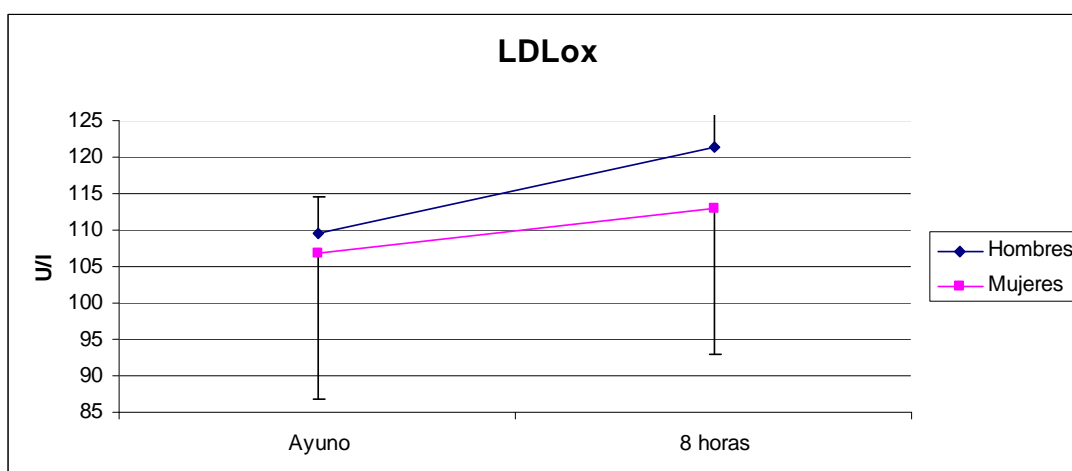
Comparando entre hombres y mujeres, el cociente GSSG/GSH fue significativamente mayor en hombres en ayunas y en todos los puntos tras SOGr.

Figura 18: Comparación del MDA en cada punto de la SOGr entre géneros.



No significación estadística entre hombres y mujeres en todos los puntos
 +p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres
 #p<0,05 comparado ayuno versus 4, 6 y 8 horas tras SOGr en mujeres

Figura 19: Comparación de LDL oxidadas en cada punto de la SOGr entre géneros.



No significación estadística entre hombres y mujeres

En la tabla 14 se exponen las áreas bajo la curva de los parámetros de oxidación.

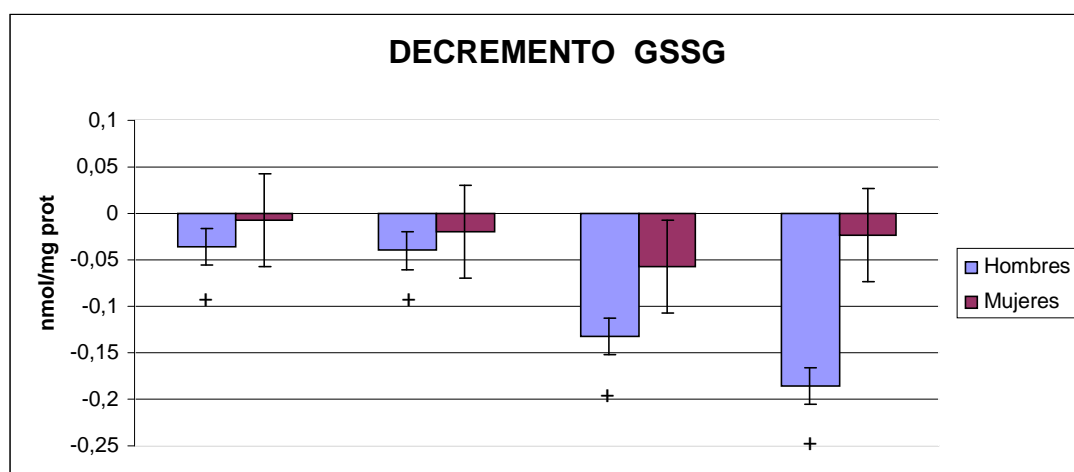
El área bajo la curva del cociente GSSG/GSH fue significativamente mayor en hombres comparado con mujeres ($0,149 \pm 0,096$ vs $0,098 \pm 0,069$ %-h, $p < 0,05$).

Comparando entre hombres y mujeres los resultados del área bajo la curva de GSH y GSSG, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (AUC de GSH $189,1 \pm 15,1$ vs $195,3 \pm 13,4$ nmol·h /mg prot, AUC de GSSG $3,35 \pm 1,87$ vs $2,32 \pm 1,39$ nmol·h /mg prot, respectivamente). Tampoco se encontraron diferencias significativas en las AUC y d-AUC de MDA.

Tabla 14: Área bajo la curva y diferencial del área bajo la curva de los parámetros de oxidación en ambos grupos.			
		Hombres	Mujeres
GSSG (nmol·h /mg prot)	AUC	3,35 (1,87)	2,32 (1,39)
	d-AUC	-0,65 (0,72)	-0,19 (0,39)
GSH (nmol·h /mg prot)	AUC	189,1 (15,0)	195,3 (13,5)
	d-AUC	6,66 (8,98)	7,74 (6,09)
GSSG/GSH (%·h)	AUC	0,15* (0,09)	0,09 (0,07)
	d-AUC	-0,04 (0,05)	-0,02 (0,03)
MDA (U/mg prot·h)	AUC	2,70 (3,03)	2,21 (2,65)
	d-AUC	-0,26 (0,32)	-0,21 (0,39)
* $p < 0,05$			

Las siguientes figuras (20 a 23) muestran los incrementos y decrementos respecto al nivel basal de los parámetros oxidación a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOGr en hombres y mujeres.

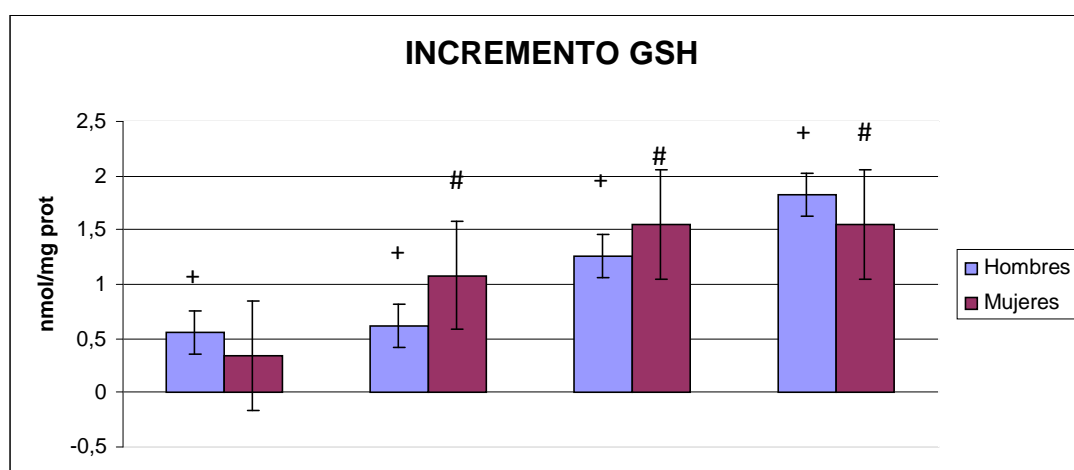
Figura 20: Comparación del descenso de GSSG respecto del nivel basal en cada punto de la SOGr entre géneros.



+p<0,01 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres

En hombres se obtuvo una disminución de GSSG estadísticamente significativa durante la SOGr (desde 0,5 nmol/mg prot en ayunas hasta 0,31 nmol/mg prot a las 8 horas, $p=0,005$). Este descenso estadísticamente significativo no se observó en mujeres (0,31 nmol/mg prot en ayunas hasta 0,29 nmol/mg prot a las 8 horas, $p=0,32$).

Figura 21: Comparación del incremento de GSH respecto del nivel basal en cada punto de la SOGr entre géneros.

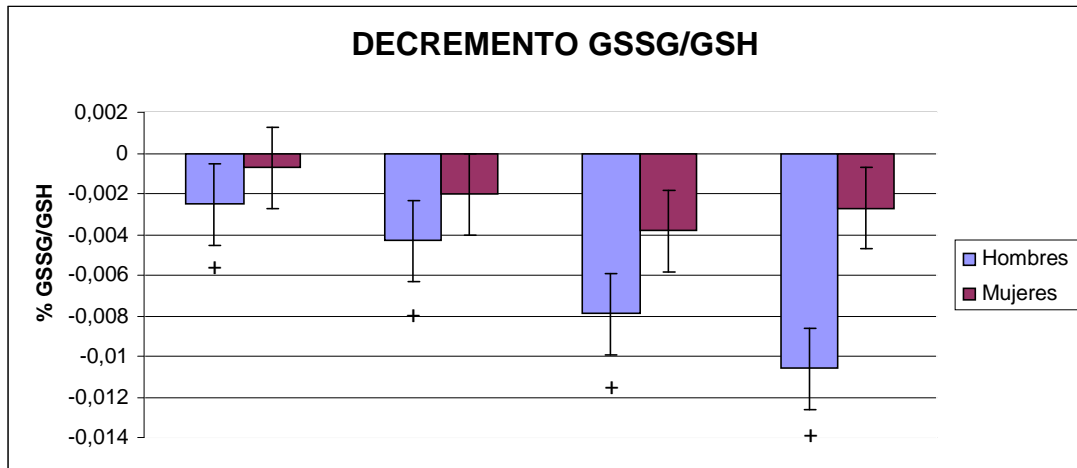


+p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres

#p<0,05 comparado ayuno versus 4, 6 y 8 horas tras SOGr en mujeres

En hombres y mujeres se obtuvo un aumento estadísticamente significativo en los valores de GSH después de 8 horas tras la SOGr en comparación con los valores en ayunas y a las 4 horas tras la sobrecarga.

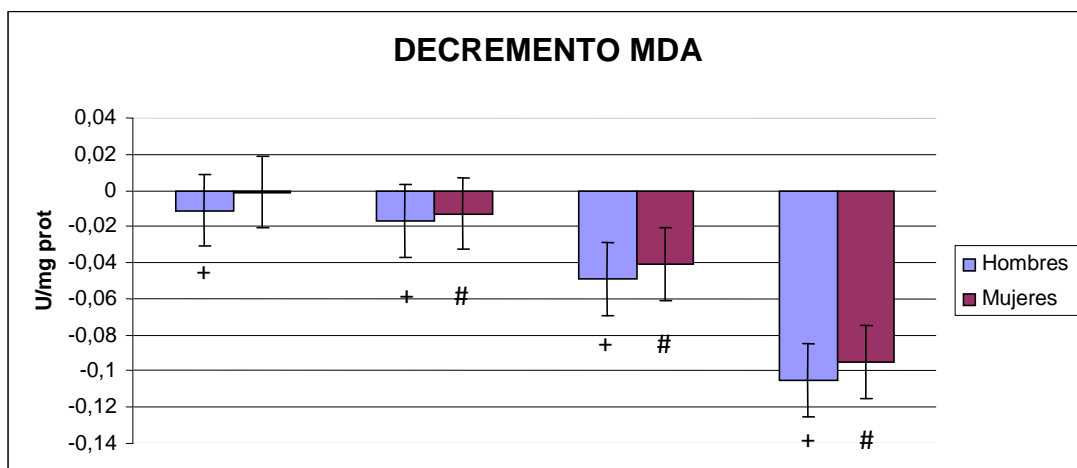
Figura 22: Comparación de la caída del cociente GSSG/GSH respecto del nivel basal en cada punto de la SOGr entre géneros.



+p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres

El cociente GSSG/GSH disminuyó significativamente en hombres a las 4 y 8 horas tras la SOGr comparado con los valores en ayunas (p=0,03 y p=0,05, respectivamente) y este descenso no fue significativo en mujeres.

Figura 23: Comparación del descenso de MDA respecto del nivel basal en cada punto de la SOGr entre géneros.



+p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en hombres

#p<0,05 comparado ayuno versus 4, 6 y 8 horas tras SOGr en mujeres

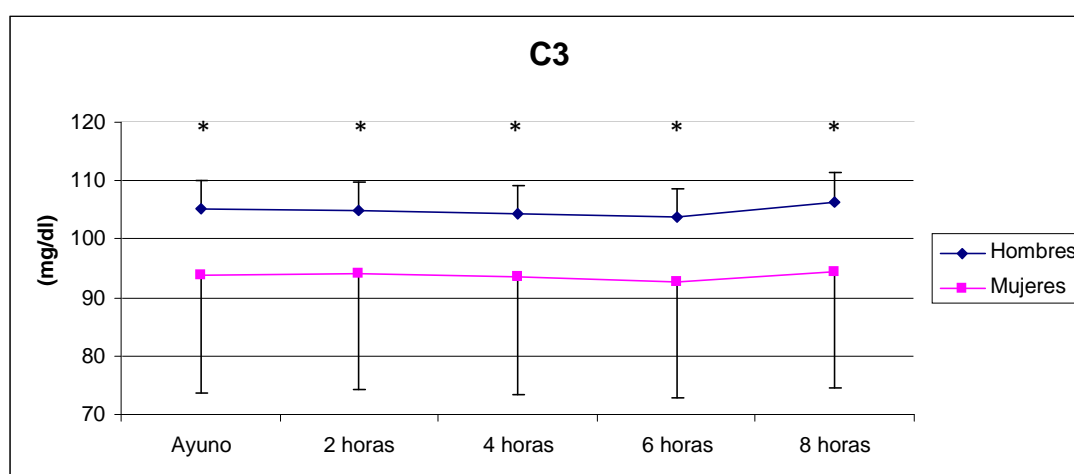
1.2.3 Comparación entre géneros de los parámetros de inflamación durante la SOGr.

En la tabla 15 y en las figuras 24 a 26 se exponen los valores de los parámetros de inflamación del grupo completo antes y después de la SOGr.

Los valores de C3 fueron mayores en hombres comparados con mujeres con diferencias estadísticamente significativas en ayunas y en todos los puntos tras la SOGr. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre géneros en los niveles de VCAM e ICAM. No se encontraron diferencias intragrupo en los valores de C3, VCAM e ICAM comparando ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr ni en hombres ni en mujeres.

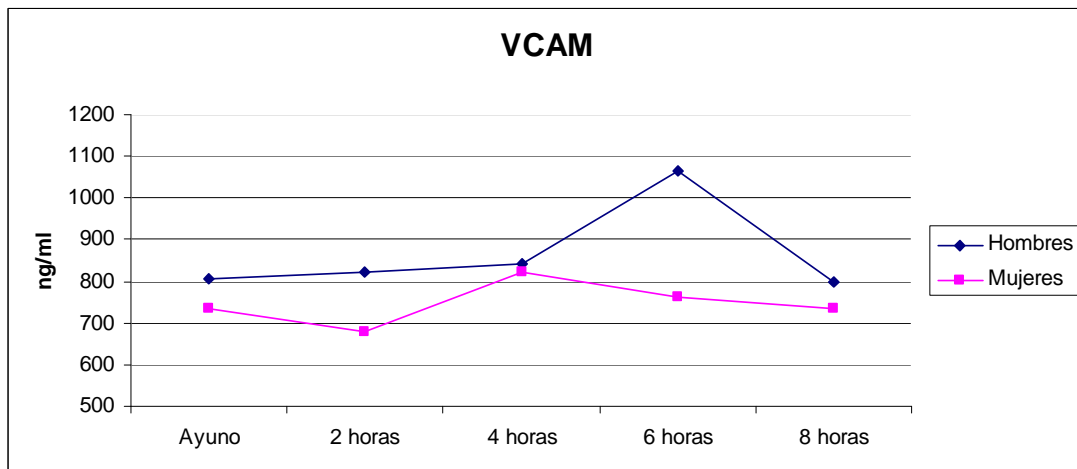
Tabla 15: Comparación de los parámetros de inflamación en cada punto de la SOGr entre géneros.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
C3 (mg/dl)	Hombres	105,1 (6,2)*	104,8 (5,9)*	104,3 (6,6)*	103,7 (6,4)*	106,4 (6,9)*
	Mujeres	93,8 (7,5)	94,2 (9,9)	93,4 (10,2)	92,8 (9,8)	94,4 (10,2)
VCAM (ng/ml)	Hombres	804,5 (197,0)	820,4 (255,1)	841,7 (193,5)	1064,9 (943,7)	799,74 (210,5)
	Mujeres	735,1 (302,6)	677,9 (271,1)	822,7 (285,5)	763,6 (235,3)	736,3 (230,7)
ICAM (ng/ml)	Hombres	115,2 (69,5)	115,8 (69,5)	127,9 (90,4)	166,2 (176,3)	158,5 (85,5)
	Mujeres	82,7 (54,4)	80,2 (54,4)	89,5 (45,3)	83,1 (47,9)	95,4 (50,0)
*p<0,05 comparado entre géneros en cada punto de la SOGr.						

Figura 24: Comparación de C3 en cada punto de la SOGr entre géneros.



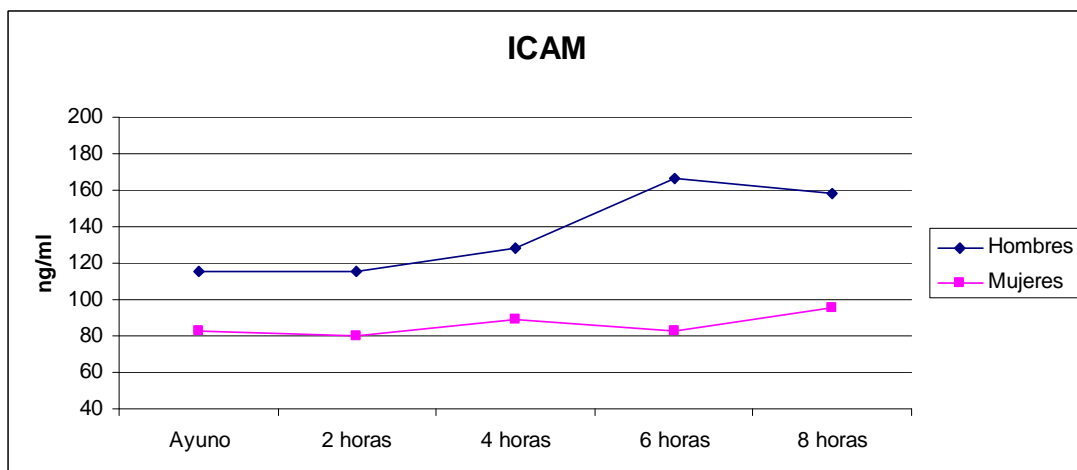
*p<0,05 entre hombres y mujeres

Figura 25: Comparación de VCAM en cada punto de la SOGr entre géneros.



No significación estadística entre hombres y mujeres

Figura 26: Comparación de ICAM en cada punto de la SOGr entre géneros.



No significación estadística entre hombres y mujeres

En la tabla 16 se exponen las áreas bajo la curva de los parámetros de inflamación comparando entre géneros.

El área bajo la curva de ICAM fue significativamente mayor en hombres comparado con mujeres ($1023,3 \pm 667,4$ vs $640,2 \pm 421,1$ ng·h/ml, $p < 0,05$), sin encontrar diferencias estadísticamente significativas en el diferencial de AUC de ICAM.

Tampoco se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre géneros en las AUC ni en los diferenciales de AUC de C3 y VCAM.

Tabla 16: Área bajo la curva y diferencial del área bajo la curva de los parámetros de inflamación en ambos grupos.

		Hombres	Mujeres
C3 (mg·h /dl)	AUC	837, 2 (45,7)	732,8 (104,1)
	d-AUC	-3,76 (31,0)	3,7 (38,5)
VCAM (ng·h/ml)	AUC	6900,7 (2118,9)	5841,9 (2393,6)
	d-AUC	770,2 (2321,3)	-67,8 (740,1)
ICAM (ng·h/ml)	AUC	1023,3 (667,4)*	640,2 (421,1)
	d-AUC	98,5 (401,1)	0,16 (92,3)
*p<0,05			

2. Comparación de los parámetros analizados a nivel postprandial en el grupo completo dividido en sujetos con normopeso y sobrepeso.

2.1. Comparación de los parámetros analizados en ayunas en el grupo completo dividido en sujetos con normopeso y sobrepeso.

En las tablas que se exponen a continuación se comparan las características clínicas, antropométricas y bioquímicas, así como parámetros de oxidación e inflamación. Se han estudiado un total de 20 sujetos con normopeso ($IMC \geq 18,5$ y $< 25 \text{ kg/m}^2$) y 12 sujetos con sobrepeso ($IMC \geq 25$ y $< 30 \text{ kg/m}^2$).

2.1.1. Características clínicas y antropométricas.

En la tabla 17 se observan las características generales del grupo completo, como edad, IMC, cintura y presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en IMC y cintura comparando normo y sobrepeso como era esperado. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en edad, PAS y PAD.

Tabla 17. Características generales del grupo completo.		
	Normopeso (n=20)	Sobrepeso (n=12)
Edad (años)	34,5 (10,1)	35,2 (14,5)
IMC (kg/m^2)	22,4 (1,7)	28,7 (1,4)*
Cintura (cm)	80,4 (7,1)	98,0 (6,5)*
PAS (mmHg)	112,2 (12,3)	117,8 (11,9)
PAD (mmHg)	68,5 (9,3)	74,5 (9,7)
*p< 0,0001. Los datos se expresan como media (desviación estándar).		

2.1.2. Datos bioquímicos en ayunas.

En la tabla 18 se resumen los principales resultados bioquímicos en ayunas del grupo completo. Los niveles de insulina, índice HOMA, CT, cLDL y Apo B fueron significativamente mayores en el grupo con sobrepeso que en el grupo con normopeso. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sobrepeso y normopeso en valores en ayunas de glucosa, cHDL, TG y Apo A.

Tabla 18. Valores del metabolismo glucídico y lipídico del grupo completo en ayuno.		
	Normopeso (n=20)	Sobrepeso (n=12)
Glucosa (mg/dl)	88,0 (8,3)	91,8 (4,6)
Insulina (μU/ml)	5,8 (3,5)	9,5 (4,3)*
Índice HOMA	1,22 (0,78)	2,1 (0,9)*
CT (mg/dl)	176,0 (30,9)	197,31 (25,3)*
cHDL (mg/dl)	62,5 (10,7)	55,6 (9,9)
cLDL (mg/dl)	100,0 (25,9)	124,4 (18,8)**
TG (mg/dl)	75,5 (32,4)	97,5 (37,3)
Apo A	145,0 (33,0)	140,6 (19,7)
Apo B	73,3 (16,5)	93,3 (14,7)**
*p< 0,05. Los datos se expresan como media (desviación estándar)**p< 0,01		

2.1.3. Parámetros de oxidación e inflamación en ayuno.

En la tabla 19 quedan reflejados los valores de los parámetros biológicos de oxidación e inflamación del grupo completo. Los valores de C3, GSSG y del cociente GSSG/GSH fueron significativamente mayores en sujetos con sobrepeso que en sujetos con normopeso. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de VCAM, ICAM, GSH, MDA y LDLox.

Tabla 19. Parámetros biológicos de oxidación e inflamación del grupo completo.		
	Normopeso (n=20)	Sobrepeso (n=12)
C3 (mg/dl)	99,0 (8,8)	108,0 (8,6)**
VCAM (ng/ml)	752,9 (220,6)	781,0 (254,3)
ICAM (ng/ml)	94,4 (59,7)	113,2 (66,5)
GSSG (nmol/mg prot)	0,26 (0,07)	0,47 (0,31)*

GSH (nmol/mg prot)	23,0 (2,7)	23,33 (1,3)
GSSG/GSH	0,011 (0,018)	0,021 (0,003)*
MDA (U/mg prot)	0,36 (0,41)	0,26 (0,34)
LDLox (U/L)	106,0 (20,4)	112,7 (19,9)
*p< 0,05. Los datos se expresan como media (desviación estándar) **p< 0,01		

2.2. Comparación de los parámetros analizados a nivel postprandial en el grupo completo dividido en sujetos con normopeso y sobrepeso.

En las tablas que se exponen a continuación comparamos las características bioquímicas y los parámetros de oxidación e inflamación a nivel basal (ayuno) y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOGr.

2.2.1 Comparación entre normopeso y sobrepeso de los parámetros lipídicos durante la SOGr.

En la tabla 20 quedan reflejados los valores lipídicos del grupo completo antes y después de la SOGr. Los valores de CT, cLDL y Apo B fueron significativamente mayores en sujetos con sobrepeso comparados con sujetos con normopeso en ayunas y en todos los puntos tras la SOGr. Los niveles de TG fueron significativamente mayores en sobrepeso comparado con normopeso a las 2, 4 y 8 horas de la SOGr, sin presentar diferencias en ayunas ni a las 6 horas.

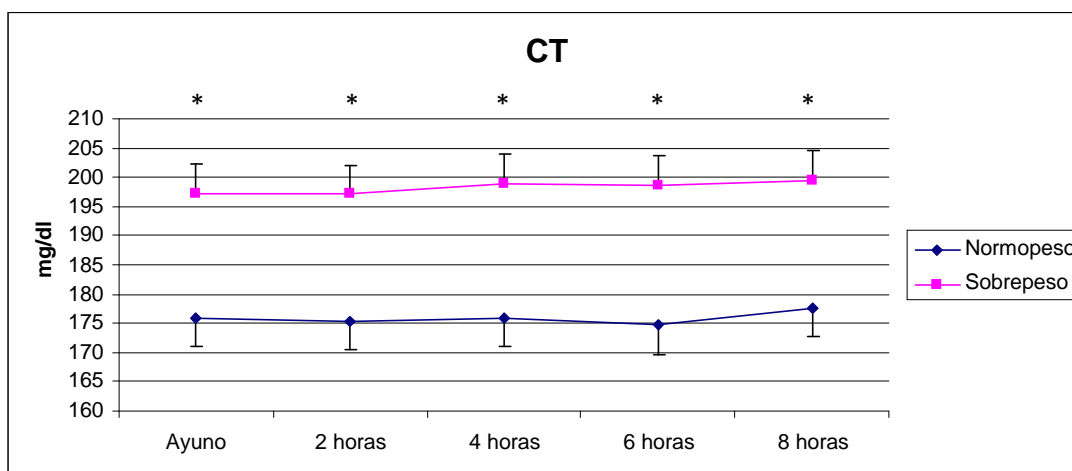
No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sobrepeso y normopeso en los niveles de cHDL y ApoA en ayunas ni postprandiales tras la SOGr.

Tabla 20: Parámetros lipídicos en ayunas y a las 2, 4, 6 y 8 horas después de la SOGr normopeso frente a sobrepeso.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
CT (mg/dl)	Normopeso	176,0 (30,9)	175,4 (30,4)	175,9 (28,4)	174,7 (30,9)	177,6 (29,3)
	Sobrepeso	197,3 (25,3)*	197,1 (26,0)*	199,0 (26,4)*	198,7 (25,0)*	199,6 (25,1)*
cHDL (mg/dl)	Normopeso	62,5 (10,7)	60,0 (9,7)	60,0 (10,4)	59,7 (10,1)	61,7 (10,6)
	Sobrepeso	55,6 (9,9)	53,8 (9,9)	53,5 (10,9)	53,9 (10,8)	55,7 (10,4)
cLDL (mg/dl)	Normopeso	100,0 (25,9)	95,9 (26,7)	94,0 (24,2)	97,7 (25,6)	103,9 (26,4)
	Sobrepeso	124,4 (18,9)**	117,5 (21,5)*	113,9 (24,6)*	121,1 (21,4)*	127,9 (20,6)*

TG (mg/dl)	Normopeso	75,5 (32,4)	106,0 (47,2)	119,3 (58,9)	93,7 (62,7)	68,5 (26,2)
	Sobrepeso	97,5 (37,3)	141,4 (50,2)*	180,7 (76,3)*	130,8 (47,4)	93,0 (31,9)*
Apo A (mg/dl)	Normopeso	145,0 (33,0)	144,8 (32,6)	145,1 (31,3)	143,7 (31,9)	146,3 (32,2)
	Sobrepeso	140,6 (19,7)	140,1 (19,5)	139,2 (20,1)	138,1 (19,9)	140,5 (18,1)
Apo B (mg/dl)	Normopeso	73,3 (16,5)	71,7 (15,4)	72,4 (14,5)	71,7 (15,6)	78,3 (23,8)
	Sobrepeso	93,3 (14,7)**	90,6 (13,3)**	91,5 (14,4)**	91,9 (14,8)**	92,9 (14,5)*
<p>*p< 0,05 comparado entre normopeso y sobrepeso en cada punto de la SOGr. **p<0,01 comparado entre normopeso y sobrepeso en cada punto de la SOGr.</p>						

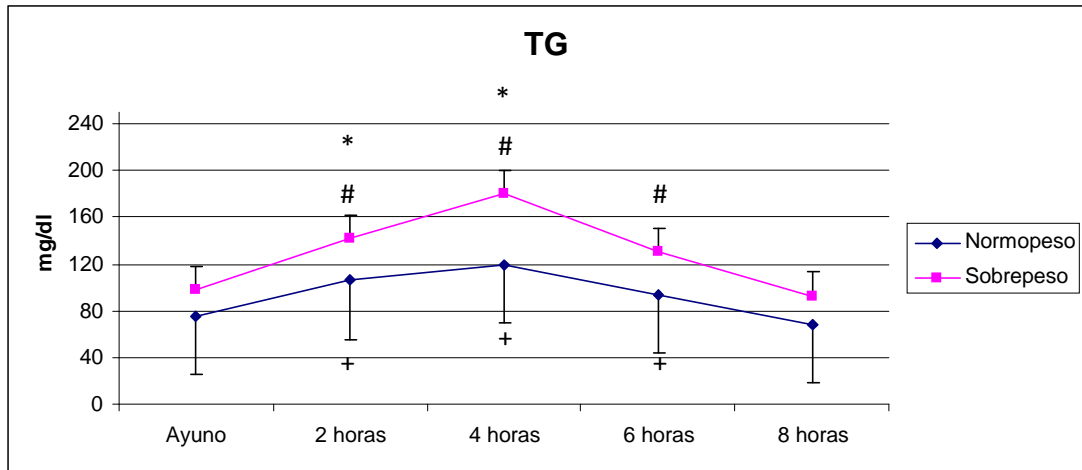
En las figuras 27 a 32 quedan reflejados gráficamente los datos anteriores junto con las áreas bajo la curva de tiempo-concentración de los lípidos en el período postprandial.

Figura 27: Comparación de los niveles de colesterol plasmático en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



*p<0,05 entre normopeso y sobrepeso

Figura 28: Comparación de la trigliceridemia plasmática en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.

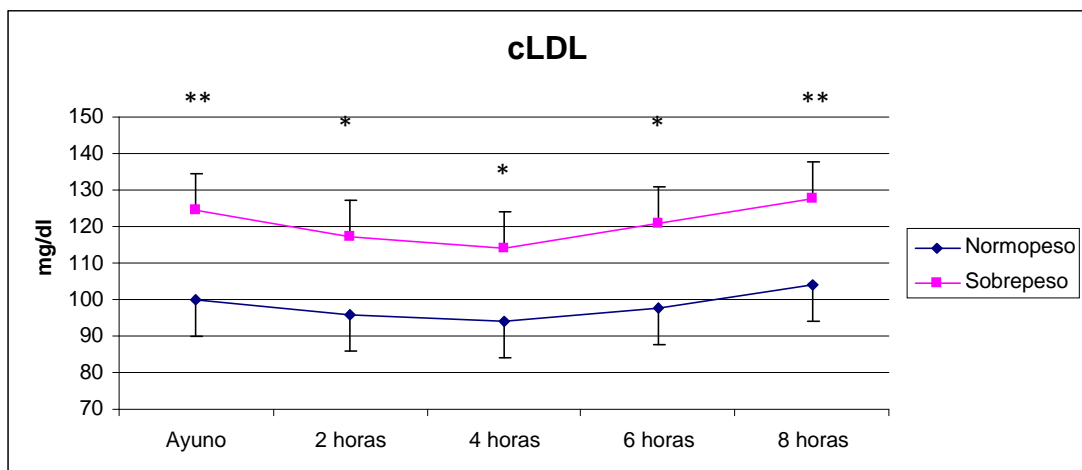


*p<0,05 entre normopeso y sobrepeso

+p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4 y 6 horas tras SOGr en normopeso

#p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, y 6 horas tras SOGr en sobrepeso

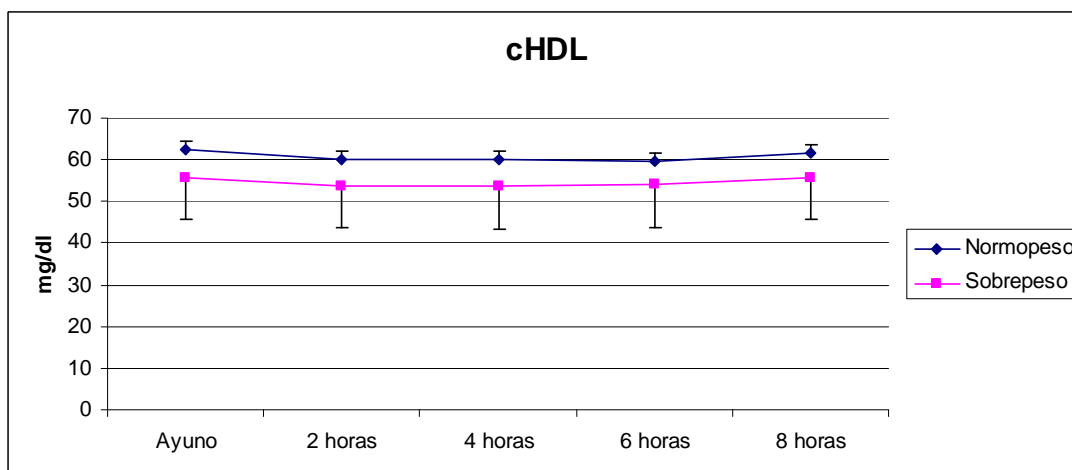
Figura 29: Comparación de los niveles de cLDL plasmáticos en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



*p<0,05 entre normopeso y sobrepeso

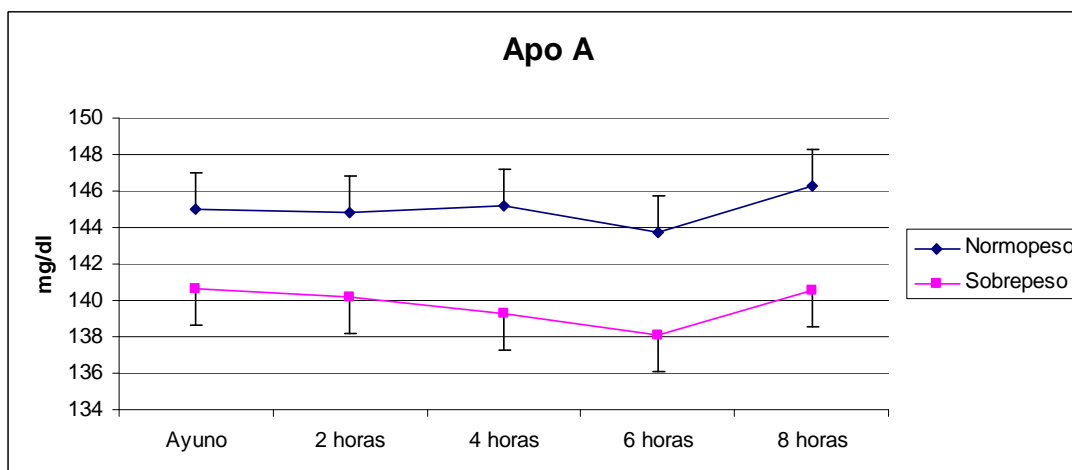
**p<0,01 entre normopeso y sobrepeso

Figura 30: Comparación de los niveles de cHDL plasmáticos en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



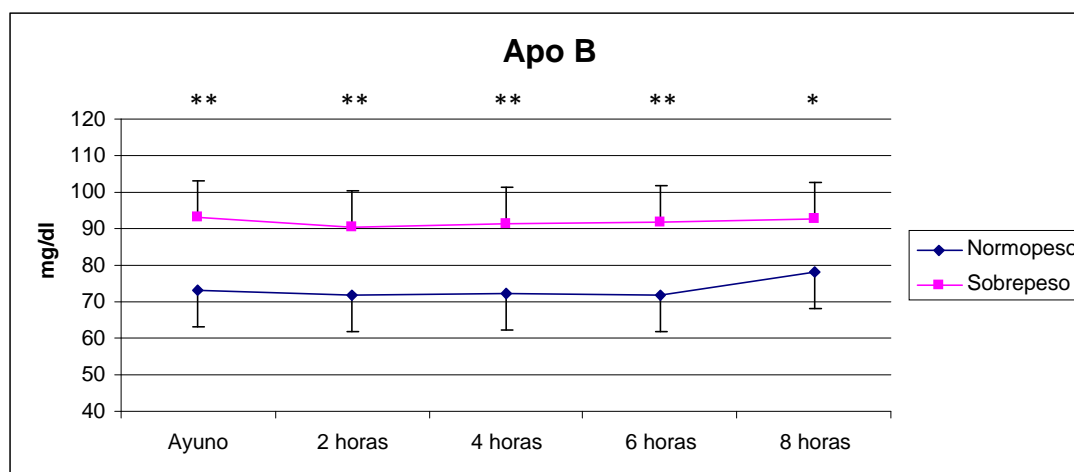
No significación estadística entre normopeso y sobrepeso en todos los puntos

Figura 31: Comparación de los niveles de Apo A plasmáticos en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



No significación estadística entre normopeso y sobrepeso en todos los puntos

Figura 32: Comparación de los niveles de Apo B plasmáticos en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



* $p < 0,05$ entre normopeso y sobrepeso

** $p < 0,01$ entre normopeso y sobrepeso

Tabla 21: Áreas bajo la curva y diferenciales del área bajo la curva de triglicéridos en ambos grupos.

		Normopeso	Sobrepeso
TG (mg/dl·h)	AUC	647,9 (167,1)	800,2 (177,8)*
	d-AUC	164.65 (202,5)	275.99 (202,7)
* $p=0,08$			

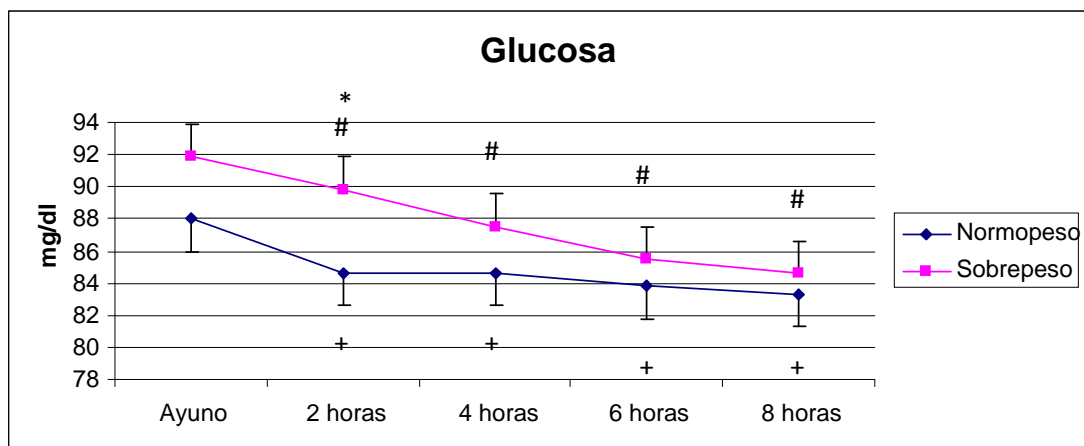
Encontramos diferencias estadísticamente significativas entre normopeso y sobrepeso en las áreas bajo la curva de TG.

2.2 Comparación entre normopeso y sobrepeso de los parámetros del metabolismo glucémico durante la SOGr.

En la tabla 22 se exponen los datos de glucosa, insulina y HOMA. Las concentraciones de los tres parámetros descienden progresivamente a lo largo de la SOGr, alcanzando los valores mínimos a las 8 horas. La glucemia, insulina y HOMA fue significativamente mayor en sujetos con sobrepeso que en aquellos con normopeso pero únicamente se mantuvo esta diferencia estadísticamente significativa en la glucemia a las 2 horas. No hubo diferencias significativas de glucemia en el resto de puntos tras la SOGr. No se observaron diferencias estadísticamente significativas a las 2, 4, 6 y 8 horas tras la SOGr en los valores de insulina e índice HOMA.

Tabla 22: Parámetros del metabolismo glucémico en ayunas y a las 2, 4, 6 y 8 horas después de la SOGr: sobrepeso frente a normopeso.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
Glucosa (mg/dl)	Normopeso	88,0 (8,3)	84,6 (5,2)	84,6 (6,5)	83,8 (2,2)	83,3 (5,7)
	Sobrepeso	91,8 (4,6)	89,8 (5,6)*	87,5 (4,7)	85,5 (4,8)	84,6 (5,7)
Insulina (μU/ml)	Normopeso	5,8 (3,5)	5,7 (24,2)	5,0 (3,4)	4,1 (3,3)	3,2 (1,7)
	Sobrepeso	9,5 (4,3)*	7,5 (4,0)	6,2 (2,2)	5,2 (2,6)	4,6 (1,8)
Índice HOMA	Normopeso	1,2 (0,8)	1,71 (0,8)	1,0 (0,7)	0,8 (0,7)	0,6 (0,3)
	Sobrepeso	2,1 (0,9)*	1,7 (0,9)	1,3 (0,5)	1,1 (0,6)	0,9 (0,4)
*p<0.05 comparado entre normopeso y sobrepeso en cada punto de la SOGr.						

Figura 33: Comparación de los niveles de glucemia plasmática en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.

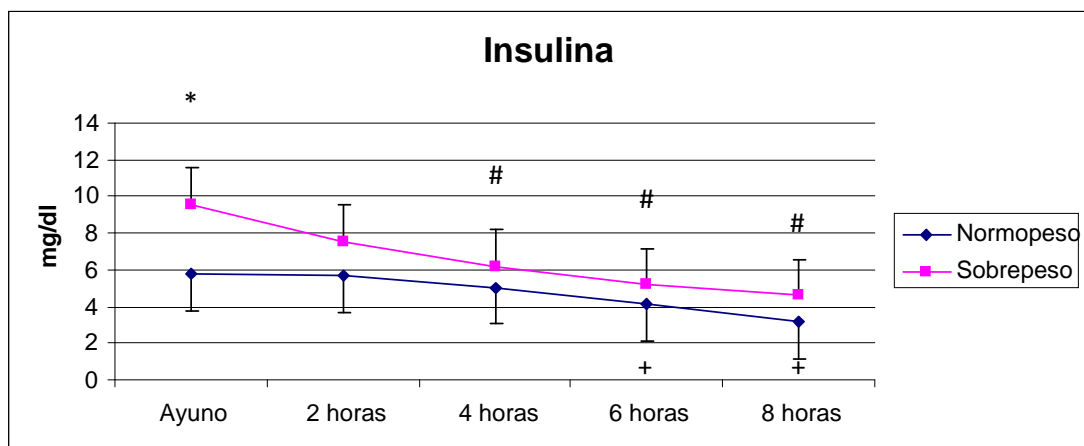


*p<0,05 entre normopeso y sobrepeso

+p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en normopeso

#p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en sobrepeso

Figura 34: Comparación de los niveles de insulinemia plasmática en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.

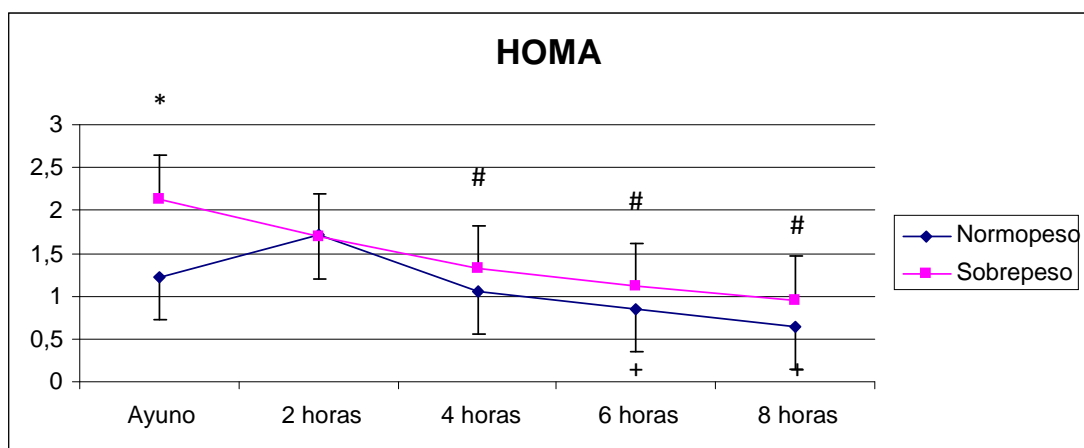


* $p < 0,05$ entre normopeso y sobrepeso

+ $p < 0,05$ comparado ayuno versus 6 y 8 horas tras SOGr en normopeso

$p < 0,05$ comparado ayuno versus 4, 6 y 8 horas tras SOGr en sobrepeso

Figura 35: Comparación de los niveles de índice HOMA en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



* $p < 0,05$ entre normopeso y sobrepeso

+ $p < 0,05$ comparado ayuno versus 6 y 8 horas tras SOGr en normopeso

$p < 0,05$ comparado ayuno versus 4, 6 y 8 horas tras SOGr en sobrepeso

Tabla 23. Áreas bajo la curva y diferencial del área bajo la curva de glucosa, insulina y HOMA en ambos grupos.			
		Normopeso	Sobrepeso
Glucosa (mg/dl·h)	AUC	669,4 (60,1)	712,6 (47,6)*
	d-AUC	-27,5 (43,0)	-55,4 (38,2)*
Insulina (μU/ml·h)	AUC	34,1 (17,7)	59,4 (32,6)**
	d-AUC	-7,7 (19,4)	-12,7 (14,2)
HOMA	AUC	7,1 (3,6)	13,2 (7,3)**
	d-AUC	-1,2 (5,2)	-3,9 (4,1)
<p>*p<0,05 **p<0,01</p>			

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en las áreas bajo las curvas de glucosa, insulina e índice HOMA, así como en el diferencial del área bajo la curva de glucosa.

No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en los diferenciales de AUC de insulina y HOMA entre los sujetos con sobrepeso y normopeso.

2.2.2 Comparación entre normopeso y sobrepeso de los parámetros de oxidación durante la SOGr.

En la tabla 24 quedan reflejados los valores de los parámetros de oxidación del grupo completo antes y tras la SOGr.

El cociente GSSG/GSH fue significativamente mayor en sujetos con sobrepeso comparado con aquellos con normopeso en ayunas y a las 6 y 8 horas tras la SOGr, sin existir diferencias estadísticamente significativas entre grupos a las 2 y 4 horas.

Los valores de GSSG fueron mayores en sujetos con sobrepeso respecto a los sujetos con normopeso en ayunas y a las 2 y 4 horas tras la SOGr, pero no existieron diferencias estadísticamente significativas a las 6 y 8 horas entre ambos grupos.

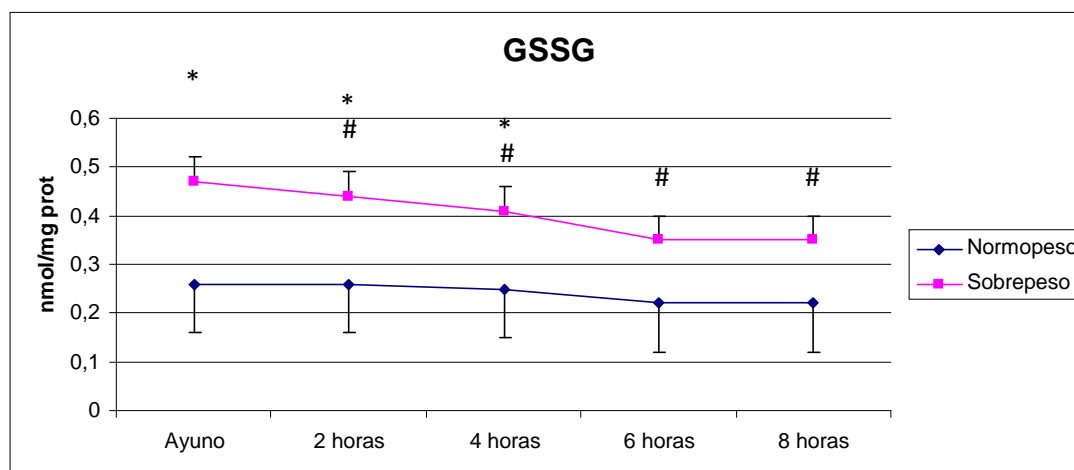
No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sujetos con normopeso y sobrepeso en los niveles de GSH, MDA y LDL oxidadas en ayunas ni durante todo el periodo postprandial tras la SOGr.

Tabla 24: Comparación de los parámetros de oxidación en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
GSSG (nmol/mg prot)	Normopeso	0,26 (0,07)	0,26 (0,07)	0,25 (0,06)	0,22 (0,05)	0,22 (0,05)
	Sobrepeso	0,47 (0,31)*	0,44 (0,28)*	0,41 (0,25)*	0,35 (0,19)	0,35 (0,17)
GSH (nmol/mg prot)	Normopeso	23,0 (2,7)	23,6 (2,4)	23,8 (2,0)	24,4 (1,7)	24,8 (1,4)
	Sobrepeso	23,3 (1,3)	23,5 (1,5)	24,2 (1,7)	24,9 (1,0)	25,2 (0,9)
GSSG/GSH (%)	Normopeso	0,011 (0,018)	0,012 (0,015)	0,014 (0,012)	0,011 (0,009)	0,010 (0,007)
	Sobrepeso	0,021 (0,003)*	0,021 (0,002)	0,021 (0,002)	0,019 (0,002)*	0,018 (0,002)*
MDA (U/mg prot)	Normopeso	0,36 (0,41)	0,36 (0,41)	0,34 (0,39)	0,31 (0,35)	0,25 (0,26)
	Sobrepeso	0,26 (0,34)	0,26 (0,32)	0,27 (0,32)	0,24 (0,28)	0,21 (0,23)
LDLox (U/l)	Normopeso	106,0 (20,4)	-	-	-	113,5 (19,5)
	Sobrepeso	112,7 (19,9)	-	-	-	125,3 (11,9)

*p<0,05 comparado entre normopeso y sobrepeso en cada punto de la SOGr.

En las siguientes figuras (36 a 40) están representados los marcadores de oxidación en ambos grupos en los diferentes puntos de la SOGr.

Figura 36: Comparación de GSSG en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.

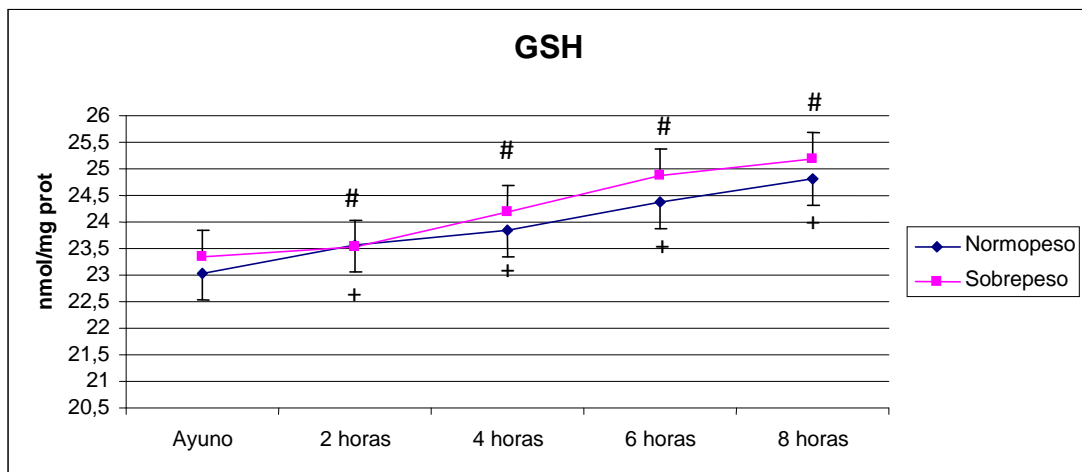


*p<0.05 entre normopeso y sobrepeso

#p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en sobrepeso

Resulta importante destacar que la diferencia estadísticamente significativa observada entre individuos con sobrepeso y aquellos con normopeso en los valores de GSSG en ayunas y a las 2 y 4 horas tras la SOGr desaparece a las 6 y 8 horas tras la SOGr. A las 6 y 8 horas tras la SOGr no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sobrepeso y normopeso en los niveles de GSSG.

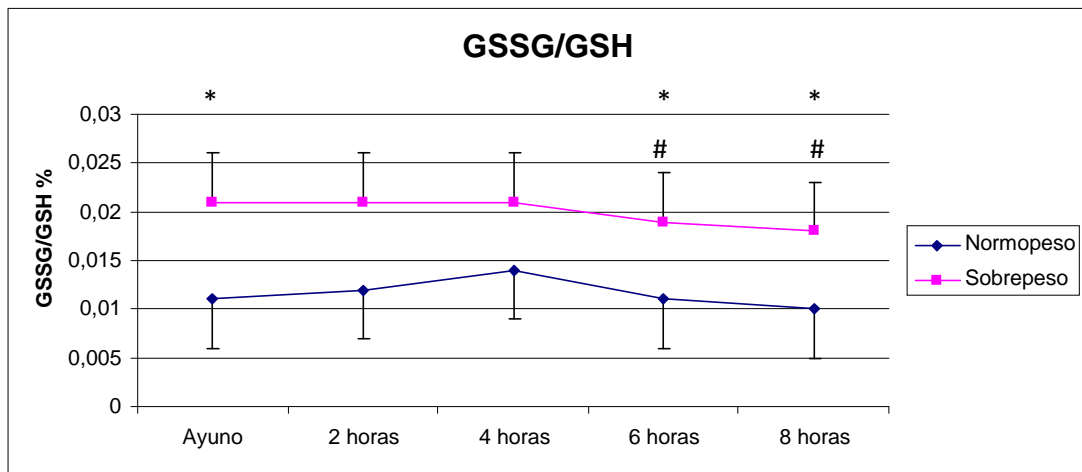
Figura 37: Comparación de GSH en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



No significación estadística entre normopeso y sobrepeso en todos los puntos
 +p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en normopeso
 #p<0,05 comparado ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr en sobrepeso

Comparando los valores de GSH entre sobrepeso y normopeso en los diferentes puntos tras la SOGr no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Figura 38: Comparación de GSSG/GSH en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.

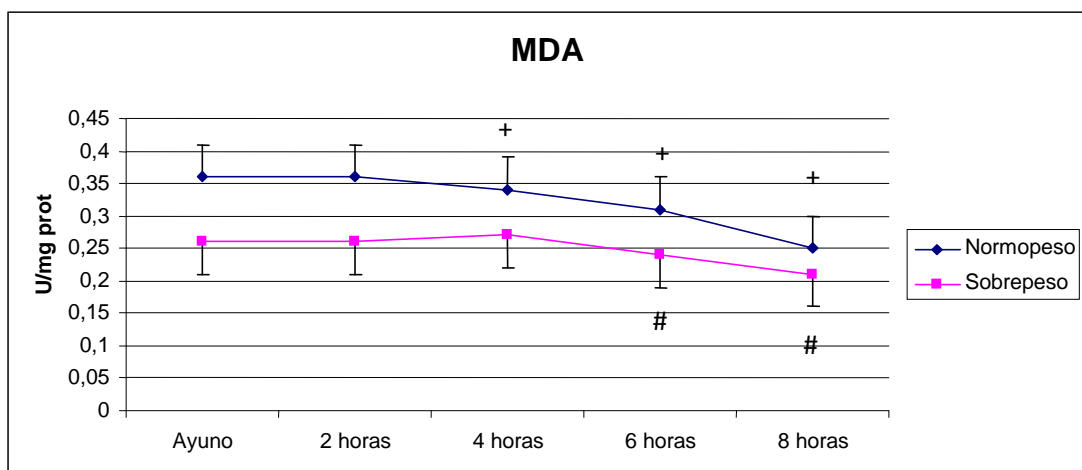


* $p < 0,05$ entre normopeso y sobrepeso

$p < 0,05$ comparado ayuno versus 6 y 8 horas tras SOGr en sobrepeso

Comparando entre hombres y mujeres, el cociente GSSG/GSH fue significativamente mayor en sujetos con sobrepeso respecto a aquellos con normopeso en ayunas y a las 6 y 8 horas tras la SOGr.

Figura 39: Comparación de MDA en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.

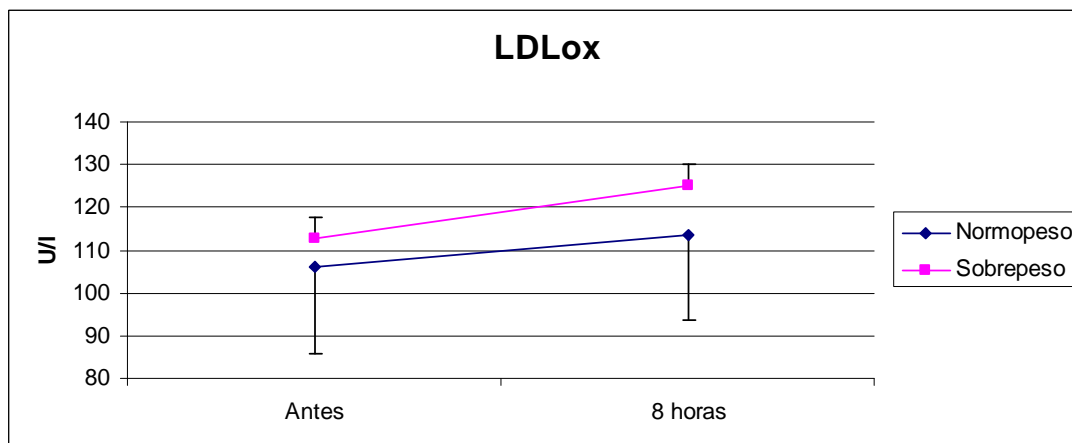


No significación estadística entre normopeso y sobrepeso en todos los puntos

+ $p < 0,05$ comparado ayuno versus 4, 6 y 8 horas tras SOGr en normopeso

$p < 0,05$ comparado ayuno versus 6 y 8 horas tras SOGr en sobrepeso

Figura 40: Comparación de LDLox en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



No significación estadística entre normopeso y sobrepeso

En la tabla 25 se exponen las áreas bajo la curva de los parámetros de oxidación.

Comparando entre sujetos sobrepeso y normopeso los resultados del área bajo la curva y diferenciales del área bajo la curva, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los parámetros determinados: GSSG, GSH, cociente GSSG/GSH y MDA.

Tabla 25: Área bajo la curva y diferencial del área bajo la curva de los parámetros de oxidación en ambos grupos.			
		Normopeso	sobrepeso
GSSG (nmol·h /mg prot)	AUC	3,67 (2,06)	3,51 (1,66)
	d-AUC	-0,71 (0,73)	-0,72 (0,63)
GSH (nmol·h /mg prot)	AUC	187,8 (17,1)	183,2 (12,0)
	d-AUC	9,2 (9,5)	11,3 (5,8)
GSSG/GSH (%·h)	AUC	0,17 (0,11)	0,16 (0,08)
	d-AUC	-0,05 (0,05)	-0,05 (0,04)
MDA (U/mg prot·h)	AUC	3,34 (3,21)	3,96 (2,69)
	d-AUC	-0,33 (0,38)	-0,29 (0,27)

2.2.3 Comparación entre normopeso y sobrepeso de los parámetros de inflamación durante la SOGr.

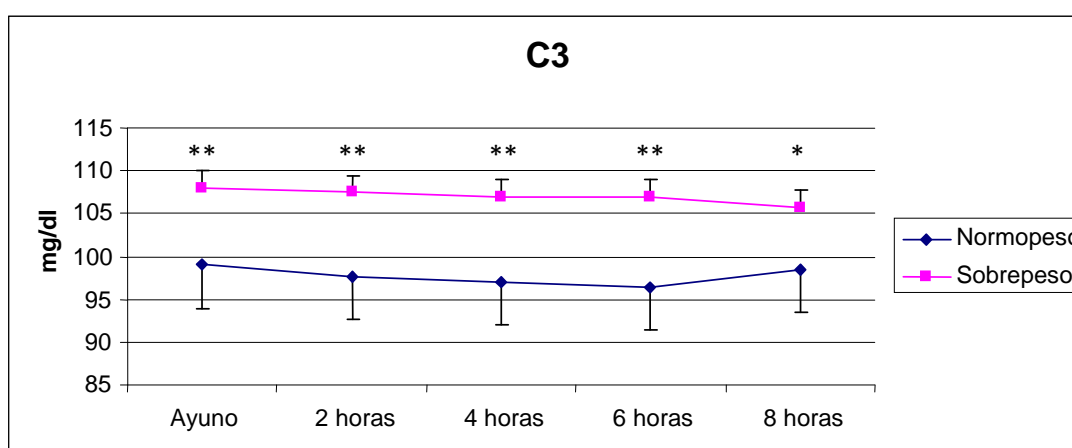
En la tabla 26 y en las figuras 41 a 43 se exponen los valores de los parámetros de inflamación del grupo completo antes y después de la SOGr.

Los valores de C3 fueron mayores en sujetos con sobrepeso comparados con aquellos con normopeso con diferencias estadísticamente significativas en ayunas y en todos los puntos tras la SOGr. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre normopeso y sobrepeso en los niveles de VCAM e ICAM. No se encontraron diferencias intragrupo en los valores de C3, VCAM e ICAM comparando ayuno versus 2, 4, 6 y 8 horas tras SOGr ni en normopeso ni en sobrepeso.

Tabla 26: Comparación de los parámetros de inflamación en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.						
		Ayuno	2 horas	4 horas	6 horas	8 horas
C3 (mg/dl)	Normopeso	99,0 (8,8)	97,6 (9,4)	97,0 (9,6)	96,3 (8,9)	98,4 (9,2)
	Sobrepeso	108,0 (8,6)**	107,5 (7,7)**	106,9 (7,7)**	106,9 (8,9)**	105,7 (9,7)*
VCAM (ng/ml)	Normopeso	752,9 (220,6)	758,1 (278,0)	809,3 (208,5)	796,8 (159,9)	770,1 (226,1)
	Sobrepeso	781,0 (254,3)	763,1 (249,2)	838,7 (240,2)	865,7 (153,7)	775,4 (197,5)
ICAM (ng/ml)	Normopeso	94,4 (59,7)	96,3 (68,9)	105,4 (63,0)	109,8 (78,4)	98,2 (61,5)
	Sobrepeso	113,2 (66,5)	111,4 (61,9)	124,4 (88,2)	142,5 (86,5)	126,7 (83,5)

*p<0,05 comparado entre normopeso y sobrepeso en cada punto de la SOGr
 **p<0,01

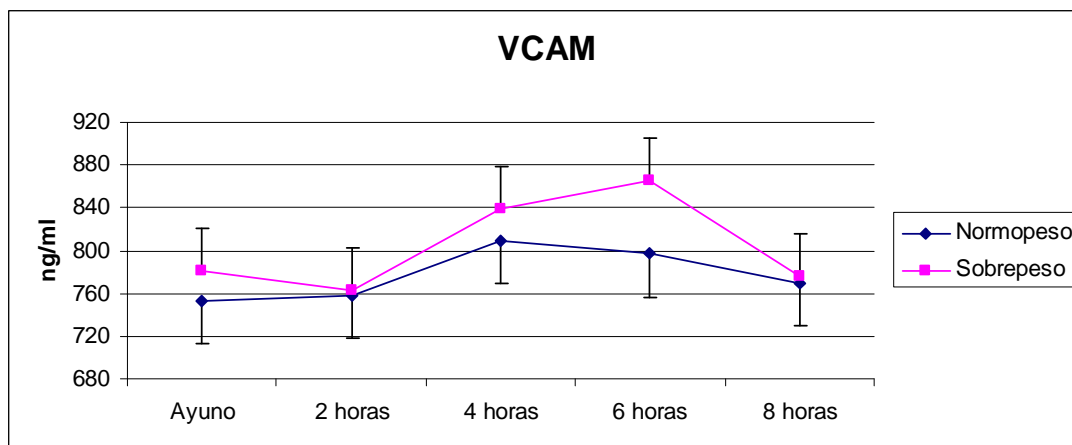
Figura 41: Comparación de C3 en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



*p<0,05 entre normopeso y sobrepeso

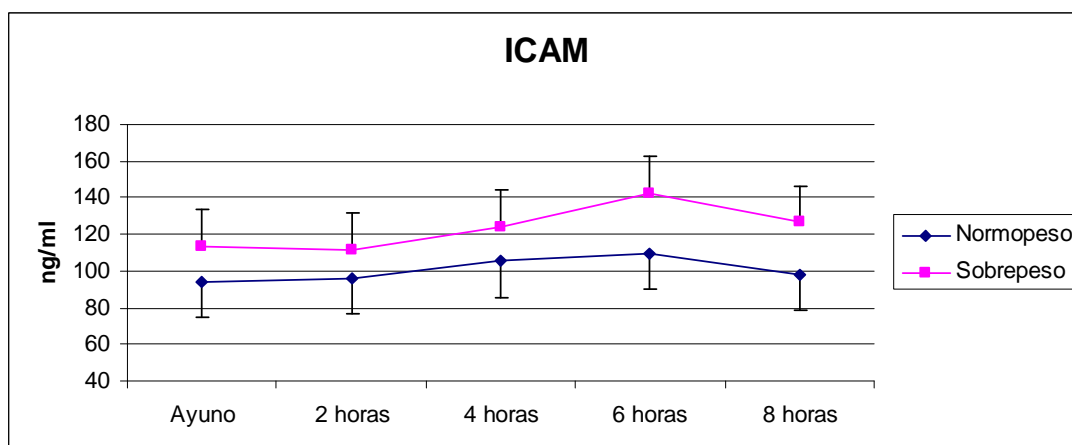
**p<0,01 entre normopeso y sobrepeso

Figura 42: Comparación de VCAM en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



No significación estadística entre normopeso y sobrepeso

Figura 43: Comparación de ICAM en cada punto de la SOGr entre normopeso y sobrepeso.



No significación estadística entre normopeso y sobrepeso

En la tabla 27 se exponen las áreas bajo la curva de los parámetros de inflamación comparando entre normopeso y sobrepeso. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas en las AUC ni en los diferenciales de AUC entre grupos.

Tabla 27: Área bajo la curva y diferencial del área bajo la curva de los parámetros de inflamación en ambos grupos.

		Normopeso	Sobrepeso
C3 (mg·h /dl)	AUC	760,8 (114,9)	826,6 (92,6)
	d-AUC	-2,91 (34,79)	-8,02 (24,34)
VCAM (ng·h/ml)	AUC	6059,4 (1690,4)	6706,4 (2496,8)
	d-AUC	226,4 (408,8)	765,7 (2605,4)
ICAM (ng·h/ml)	AUC	1406,0 (215,2)	1555,8 (742,5)
	d-AUC	-2,9 (101,6)	136,1 (427,9)

3. Resultado de las correlaciones en el grupo completo.

3.1. Estudio de los factores que predicen el área bajo la curva de C3 en el grupo completo.

AUC de C3 correlacionó con IMC ($r=0,0441$ $p=0,009$), con cintura ($r=0,398$ $p=0,002$) y con $-dAUC$ glucosa ($r=0,451$ $p=0,007$). No se obtuvo correlación con la edad o marcadores de EO o inflamación.

3.2. Estudio de los factores que predicen las áreas bajo la curva de VCAM e ICAM en el grupo completo.

No se obtuvieron correlaciones de AUC de ICAM ni de AUC de VCAM con edad o marcadores de RI o de EO.

3.3 Estudio de los factores que predicen el EO en el grupo completo.

No se obtuvo correlación de EO con ninguno de los factores estudiados (edad, antropometría, o RI).

V. Discusión

V. Discusión

El riesgo de desarrollar AE y su complicación clínica, la enfermedad cardiovascular, no es uniforme en toda la población y depende de numerosos factores tanto ambientales como genéticos. Los cambios en los hábitos alimentarios de la población han promovido un aumento en el número de ingestas diarias, con lo que la mayoría de individuos pasan la mayor parte del día en situación postprandial.

La lipemia postprandial (LPP) representa el acúmulo en plasma de partículas lipoproteicas ricas en triglicéridos (TG), incluyendo quilomicrones (QM), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), sus remanentes y también de los ácidos grasos libres (AGL), hasta aproximadamente 6-10 horas después de una comida grasa (7,70).

Hasta el 40% de todos los pacientes con enfermedad arterial coronaria prematura presentan niveles normales de lípidos en ayunas, pero disminución en el aclaramiento de lipoproteínas en situación postprandial (6). Además, esta disminución en el aclaramiento de lipoproteínas está aumentada en sujetos con alto riesgo cardiovascular: obesidad abdominal, diabetes y síndrome metabólico (6,7) .

Las lesiones arterioscleróticas son consecuencia de múltiples factores inflamatorios y de estrés oxidativo que contribuyen en su patogénesis desde la disfunción endotelial, que constituye un paso inicial en la AE. Este proceso inflamatorio y de EO está presente en el inicio, el desarrollo y en las complicaciones de las placas de aterosclerosis (4,5).

En el presente trabajo se ha estudiado el efecto de una sobrecarga oral grasa rica en ácidos grasos insaturados sobre diferentes parámetros bioquímicos y marcadores de estrés oxidativo e inflamación crónica de bajo grado en sujetos normoglucémicos, normolipidémicos y no obesos. Además, se han comparado los marcadores de EO e inflamación, tanto en ayunas como en situación postprandial, analizado las diferentes respuestas obtenidas entre grupos: ambos géneros y entre los sujetos con normopeso y sobrepeso.

1. Determinación de los niveles de GSH, GSSG, MDA, LDLox, moléculas de adhesión endotelial (VCAM e ICAM) y C3 en plasma en ayunas y a las 2, 4, 6 y 8 horas tras una SOGr con grasa insaturada en sujetos sanos, normolipidémicos no diabéticos.

La población seleccionada para nuestro estudio estaba compuesta por sujetos sanos con normoglucemia, normolipidemia y no obesos ($IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) con el objetivo

de estudiar en subgrupos la situación en ayunas de diversos marcadores de oxidación e inflamación directamente relacionados con la AE, así como la respuesta de estos a una sobrecarga oral con grasa insaturada.

Es bien conocido que los sujetos con factores de riesgo cardiovascular como la dislipemia tienen mayor concentración de marcadores de EO en ayunas(112) y además se sabe que la SOGr con grasas insaturadas disminuye el EO en estos pacientes. Además, el efecto beneficioso fue mayor que el obtenido en sujetos normolipidémicos y normoglucémicos (113). No obstante la respuesta a la SOGr con grasas insaturadas no está bien caracterizada en sujetos sanos y no se conoce la distribución del posible efecto beneficioso al comparar entre géneros y entre los sujetos con normo y sobrepeso.

La lipemia postprandial y los niveles de inflamación y oxidación están influidos por múltiples factores nutricionales y genéticos, por lo que seleccionamos una muestra homogénea y una sobrecarga estandarizada y bien caracterizada para minimizar esta variabilidad.

La actividad física aeróbica produce una reducción significativa en la lipemia postprandial de un 24-35% y aumenta la actividad de la LPL (124). Adicionalmente, el ejercicio induce EO en humanos (125) y puede afectar a los marcadores de inflamación (126). Por este motivo, la población estudiada no incluía sujetos que practicaran deporte durante más de 4 horas semanales. Además, se evitó la realización de ejercicio físico el día previo a la SOGr y se mantuvo reposo relativo durante la realización de la misma.

Los fumadores habituales presentan aumentos de hasta el 50% en el incremento postprandial de triglicéridos sin cambios en la trigliceridemia de ayuno (127), además, también son conocidos los efectos agudos del tabaquismo sobre el EO e inflamación (128). Por todo esto, ninguno de los sujetos seleccionados en nuestro trabajo era fumador.

También se excluyeron los sujetos con ingesta >30 g/día de alcohol y no se permitió la ingesta de alcohol el día previo a la SOGr. El etanol estimula la secreción de partículas grandes de VLDL (129), aumenta la síntesis de ácidos grasos y reduce su aclaramiento plasmático (130).

La Apo E es un componente estructural de varias lipoproteínas y funciona como ligando del *LDLR* y *LRP*, participando activamente en el metabolismo postprandial al facilitar el aclaramiento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos de la circulación. Las isoformas de Apo E (E2, E3, E4) difieren en su afinidad para unirse a los receptores específicos (131); los sujetos homocigotos de ApoE2 tienen un aclaramiento enlentecido, mientras que los portadores de ApoE4 tienen un

aclaramiento más rápido de las partículas remanentes (132). En nuestra muestra, todos los pacientes eran homocigotos para E3 con objeto de evitar esta variabilidad. Sin embargo, se conocen otros polimorfismos que pueden influir en la lipemia postprandial, tales como los genes de lipoproteína lipasa, apo CIII, apo A1 y apoA4, CETP, FABP2 y receptor “scavenger”, entre otros (124). Estos polimorfismos no se estudiaron en nuestro trabajo y podrían influir en los resultados, explicando en parte las diferencias interindividuales observadas. Ahora bien, estos polimorfismos son poco prevalentes en la población general sana.

La SOGr utilizada en nuestro estudio proporcionaba una cantidad de grasa de 50 g por m² de superficie corporal siendo equiparable a la contenida en la mayoría de comidas habituales (30-70 g grasa). Se ha descrito que dosis menores de 30 g no producen aumentos significativos de trigliceridemia y mayores de 80 g pueden exagerar la lipemia postprandial sin presentar relación dosis-dependiente (133). El 100 % de los lípidos aportados en nuestro estudio eran TG de cadena larga influyendo sobre la trigliceridemia postprandial al entrar a la circulación general en forma de quilomicrones. Esto difiere respecto a otros estudios de lipemia postprandial realizados con comidas de prueba, puesto que las grasas dietéticas contienen diferentes proporciones de ácidos grasos de cadena corta y media, las cuales pasan directamente a circulación portal y tienen un efecto limitado sobre la trigliceridemia postprandial. En el perfil de lípidos se seleccionó una composición basada en las recomendaciones NCEP-1, puesto que el preparado utilizado en nuestro trabajo, Supracal (SHS international Ltd.), se obtiene a partir de aceites vegetales y es rico en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) 56,6% , con 20,2% de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y 19,2% de ácidos grasos saturados (AGS).

La sobrecarga oral grasa utilizada en nuestro trabajo no contenía hidratos de carbono ni fibra, para no alterar la respuesta lipídica. Se ha descrito que las dietas ricas en carbohidratos pueden elevar la hipertrigliceridemia postprandial al interferir en la síntesis y aclaramiento de las lipoproteínas (134). Además, se conoce que la fibra soluble reduce la tasa de digestión de grasa dietética y atenúa la respuesta lipémica postprandial (135).

En el grupo completo de nuestro estudio, los niveles máximos de TG se obtuvieron a las 4 horas. La trigliceridemia regresó a los valores basales a las 8 horas tras la SOGr. Otros investigadores también observaron trigliceridemias máximas entre las 3 y 4 horas tras las SOGr en sujetos sanos, aunque con valores muy variables (entre 140 y 210 mg/dl) al existir poca uniformidad entre grupos en cuanto a la cantidad y calidad de la grasa administrada y la variación en las características fenotípicas de los pacientes estudiados (136–138).

En nuestro trabajo, la SOGr rica en ácidos grasos insaturados mostró la respuesta esperada respecto a los parámetros de oxidación puesto que en el grupo completo se obtuvieron disminuciones en los niveles de GSSG, MDA y en el cociente GSSG/GSH, al producirse un descenso del glutatión oxidado plasmático con aumento del reducido, mientras que los valores de GSH y C3 aumentaron.

Así pues, se ha objetivado un efecto beneficioso sobre el EO con la ingesta de un preparado de grasa con predominio de AGMI y sin antioxidantes en sujetos sanos. No obstante, la respuesta obtenida no fue homogénea en nuestra población pudiendo caracterizar la distribución del efecto beneficioso en subgrupos al comparar entre géneros y entre los sujetos con normo y sobrepeso los diferentes grados de mejoría en los marcadores de oxidación e inflamación estudiados.

2. Efecto del género en los marcadores de EO (GSH, GSSG, MDA y LDLox), del marcador de inflamación crónica de bajo grado componente C3 del complemento y moléculas de adhesión endotelial en situación postprandial tras una SOGr con grasa insaturada.

El grupo de los hombres presentó en ayunas valores más elevados de GSSG y mayor cociente GSSG/GSH comparado con el grupo de las mujeres en nuestro estudio, indicando un mayor estado de EO en ayunas. En diversos estudios se encontraron diferencias entre géneros en los marcadores de EO en ayunas (139,140). En general, las mujeres presentan en ayunas marcadores de EO menores que los hombres. Estas diferencias observadas podrían atribuirse en parte al efecto de los estrógenos en las vías enzimáticas mitocondriales implicadas en el balance de ROS (139,140). En estudios con animales, la actividad de ROS se ha mostrado regulada de forma diferente en el género masculino y femenino y puede estar directamente influenciada por las hormonas sexuales (140,141). Los estrógenos pueden regular al alza la expresión de enzimas antioxidantes mediante la activación de receptores de estrógenos y las vías de MAPK y NFK β (139). Se ha descrito una compleja interacción entre estrógenos y TNF- α , así, el déficit estrogénico se asocia con aumento de TNF- α que a su vez induce el incremento en la producción de ROS y la disminución de NO (141).

La ingesta de comida rica en carbohidratos y grasas resulta en una situación de hiperglucemia y/o hipertrigliceridemia postprandial. El estado postprandial alterado se ha relacionado con un empeoramiento transitorio de la función endotelial, niveles elevados de EO y marcadores de inflamación asociados con el proceso de arteriosclerosis (6,84,142). Los cambios en los hábitos dietéticos en la sociedad occidental promueven el reparto y aumento de número de las ingestas diarias de forma que la mayoría de individuos pasan la mayor parte del día en situación

postprandial, por lo que el estudio de la lipemia en situación postprandial sea más fisiológico y extrapolable.

En estado postprandial utilizando grasa saturada es conocido que los hombres presentan niveles de EO más elevados que las mujeres como demostraron Bloomer y cols. (109). En este sentido, la ingesta de una comida rica en grasas saturadas generó un mayor grado de EO y función endotelial alterada (6,101). Además, Halkes CJ y cols. (143) observaron un aumento de ROS en sujetos sanos después de una SOGr y después de la ingesta de una comida mixta con grasa saturada. Todos estos resultados indican que una sobrecarga rica en grasa saturada conduce al incremento postprandial de EO. El hallazgo de un menor EO postprandial observado en mujeres podría ser uno de los mecanismos asociados al menor riesgo de enfermedad cardiovascular en el género femenino y explicar en parte las diferencias entre géneros en el proceso de arteriosclerosis.

Nuestros resultados indican que después de una SOGr rica en ácidos grasos insaturados (58% ácido oleico (C18:1) y 20% ácido linoleico (C18:2)) se observó mejoría en el estado antioxidante (aumento de GSH) como se esperaba, con disminución de parámetros de EO (GSSG y cociente GSSG/GSH) en ambos grupos. No obstante, el efecto beneficioso fue mayor con diferencias estadísticamente significativas en hombres comparados con el efecto observado en mujeres. La reducción en los niveles de GSSG y en el cociente GSSG/GSH fue significativamente mayor en hombres tras la SOGr comparada con la obtenida en el grupo de las mujeres. El valor de GSSG y el cociente GSSG/GSH en ayunas disminuyeron significativamente un 50% en hombres tras la SOGr con grasa insaturada. Así, la grasa insaturada probablemente consiguió una mejoría en la lipemia postprandial y en el estado de EO postprandial mayor en hombres.

Otros estudios de intervención dietética han mostrado que las comidas enriquecidas con grasa insaturada mejoran el estado de EO en ayunas. Cortés B y cols. (103) estudiaron el efecto de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados (n-3) sobre parámetros de oxidación en sujetos sanos y en pacientes con hipercolesterolemia moderada. Emplearon comidas de prueba (1200 Kcal totales con 80 gramos de grasa, de la cual el 35% era saturada y con 120 mg de colesterol) a las que se añadían 25 ml de aceite de oliva, o bien, 40 g de nueces. En ambos grupos, las comidas enriquecidas con grasa mono o poliinsaturada disminuyeron significativamente las partículas oxidadas de LDL. Adicionalmente, el grupo de López Miranda y cols. (144) demostraron, después de cuatro semanas de intervención dietética con una dieta enriquecida con grasa monoinsaturada, mayores valores plasmáticos de NO comparado con una dieta enriquecida con grasa saturada o añadiendo ácido α -linolénico. Además, en este subgrupo y tras un desayuno de prueba rico en AGMI, la biodisponibilidad de NO continuaba siendo

superior y la respuesta vasodilatadora dependiente de endotelio era mayor. Este estudio refleja la posible influencia positiva de los AGMI junto con su contenido en polifenoles, en la actividad de la NOS y su efecto beneficioso en la protección cardiovascular. Posteriormente, este mismo grupo y en población anciana (145), mostró que la dieta mediterránea y el desayuno de prueba ricos en AGMI descendían en periodo postprandial la actividad de GPX y los niveles plasmáticos de peróxidos lipídicos, nitrotirosina y LDLox frente a una ingesta rica en AGS.

En nuestro estudio, los efectos beneficiosos observados en la oxidación sistémica son atribuibles directamente a la grasa insaturada con contenido predominante de AGMI de nuestra SOGr con Supracal®. Supracal® no contiene polifenoles ni otros compuestos antioxidantes característicos del aceite de oliva o las nueces empleadas en los estudios anteriormente citados. Sobre este aspecto existe controversia. Así, en estudios in vitro (146) y de intervención dietética (147) con aceite de oliva virgen han atribuido los beneficios antioxidantes a su contenido en polifenoles. Pero por otro lado, en estudios de intervención aleatorizados y multicéntricos (148), el consumo de aceite de oliva disminuyó significativamente el nivel de EO (excreción urinaria de 8-oxo-dG) y el efecto fue independiente del contenido en compuestos fenólicos y sí relacionado con el contenido en AGMI.

Utilizando una SOGr rica en ácidos grasos insaturados, en nuestro trabajo no hemos encontrado diferencias en la trigliceridemia postprandial comparando hombres y mujeres, si en cuanto al AUC de triglicéridos que fue mayor en hombres. Así, otros estudios sobre lipemia postprandial han demostrado que las mujeres sanas tenían menores valores de trigliceridemia postprandial y una menor área bajo la curva de TG comparado con hombres (105). Además, los hombres con síndrome metabólico presentaron un aclaramiento retardado en la trigliceridemia postprandial comparado con las mujeres con síndrome metabólico (149). Destacar que, las intervenciones dietéticas y protocolos de investigación utilizados en los estudios mencionados fueron diferentes y no comparables con nuestro estudio.

Respecto al componente C3 del complemento que muestra una estrecha correlación con la lipemia postprandial (89), algunos estudios han demostrado que en hombres existen en ayunas y en situación postprandial niveles de C3 mayores que en mujeres (90,92,93). El perímetro de cintura y el índice HOMA son mayores en hombres comparado con mujeres y algunos autores han atribuido las diferencias de C3 encontradas entre géneros a la distinta distribución de grasa corporal y menor sensibilidad a la insulina observada en hombres (90,92,93). En nuestro estudio se confirman estos resultados dado que en hombres encontramos valores de C3 en ayunas y postprandiales mayores a los observados en mujeres. No se observó efecto postprandial en los valores de C3 con la grasa insaturada y las respuestas postprandiales obtenidas fueron similares en hombres y mujeres.

En resumen, en nuestro estudio hemos objetivado una disminución postprandial del estado de EO en ambos géneros (disminución en GSSG y área bajo la curva del cociente GSSG/GSH y aumento en GSH) utilizando una SOGr con grasa insaturada comparado con la situación en ayunas. Adicionalmente, el descenso postprandial observado en los marcadores de EO en ambos sexos fue significativamente mayor en hombres comparado con el obtenido en mujeres, indicando una mejor respuesta a la grasa insaturada en los hombres. Para confirmar nuestra hipótesis deberían realizarse diferentes estudios controlados de intervención postprandial utilizando grasa saturada e insaturada y comparando sus respuestas en ambos sexos.

3. Comparación entre sujetos con normopeso y sobrepeso de la respuesta de los marcadores de EO, del marcador de inflamación crónica de bajo grado componente C3 del complemento y de las moléculas de adhesión endotelial en situación postprandial tras una SOGr con grasa insaturada.

Como hemos comentado, la lipemia postprandial alterada está asociada con el desarrollo precoz de AE siendo un factor de riesgo cardiovascular aun en ausencia de hipertrigliceridemia en ayunas (82). La disminución en el aclaramiento de lipoproteínas en situación postprandial está presente hasta en el 40% de todos los pacientes con enfermedad arterial coronaria prematura con niveles normales de lípidos en ayunas. Este aclaramiento disminuido de lipoproteínas es más acusada en sujetos con alto riesgo cardiovascular, diabetes, síndrome metabólico y obesidad abdominal (6,7).

Estudios previos de nuestro grupo valorando el grado de lipemia postprandial mediante la determinación de trigliceridemia capilar (TGc) diurna indican que el área bajo la curva de TGc diurna fue mayor en hombres y en mujeres con obesidad abdominal comparado con población no obesa. Los predictores mayores del AUC de TGc diurna fueron la edad, género e IMC (110,111). Por tanto, el IMC es un predictor de lipemia postprandial. No obstante la respuesta a la SOGr con grasas insaturadas no está bien caracterizada en sujetos sanos con sobrepeso ($IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) a nivel de lipemia postprandial y respuesta de parámetros postprandiales, por ejemplo de EO o marcadores de inflamación de bajo grado.

En el presente trabajo observamos que los niveles de TG son significativamente mayores tras las SOGr en los sujetos con sobrepeso comparado con aquellos con normopeso ($93,00 \pm 31,92$ vs $68,50 \pm 26,17$, $p=0,02$), existiendo diferencia en el área bajo la curva de triglicéridos entre sobrepeso y normopeso ($800,20 \pm 177,83$ vs $647,88 \pm 167,09$, $p=0,08$).

La población con obesidad abdominal se caracteriza por presentar insulinoresistencia (IR) (150), situación patológica caracterizada por disminución de la respuesta fisiológica de los tejidos periféricos a la acción de la insulina. La IR es un factor de riesgo importante de diabetes tipo 2 (151), de ECV (152) y constituye una de las bases fisiopatológicas del SM (153). En los pacientes con obesidad abdominal se produce en situación postprandial, en parte debido a la IR, un defecto de la LPL (154), reduciéndose el aclaramiento plasmático de las partículas ricas en TG. Esta situación aumenta el flujo de AGL, remanentes de QM y VLDL ricos en TG al hígado, contribuyendo así a una mayor LPP (155,156), ya que este aumento de flujo lipídico al hígado aumenta la producción endógena de VLDL, lo que contribuiría a una mayor LPP. Por tanto, en estos pacientes existe una alteración y una disminución en el aclaramiento postprandial de los remanentes lipoproteicos (157–159). Esto explica que en los pacientes con obesidad abdominal e IR, los efectos deletéreos de la LPP estén ampliados o magnificados (160).

En sujetos con sobrepeso y valores normales en ayuno de TG, Halkes y cols. (161) demostraron que existe una relación positiva entre el grado de IR y la LPP. Además, observaron que las diferencias en los valores de la LPP encontradas entre géneros desaparecen por el efecto de la obesidad. Resultados similares hemos encontrado en nuestro grupo al estudiar sujetos con obesidad e IR (162,163) y en el presente trabajo. La alteración de la LPP en pacientes con obesidad abdominal se ha relacionado, no sólo con la IR asociada a la obesidad, sino también por la propia obesidad abdominal. Esto podría ser debido a que el tejido adiposo visceral es un tejido metabólicamente activo que puede producir AGL, adipoquinas, así como distintas moléculas de tipo inflamatorio, implicadas todas ellas en la patogénesis de la LPP (164). Además, la variabilidad individual en la respuesta de la LPP excede a la que se produce en la lipemia en ayuno, debido a que existen numerosos factores genéticos y ambientales que contribuyen a la LPP (165).

En la población estudiada en el presente trabajo observamos diferencias estadísticamente significativas en ayunas en los parámetros relacionados con el metabolismo glucémico y resistencia insulínica en función de parámetros antropométricos, así los sujetos con sobrepeso presentan niveles mayores que los sujetos con normopeso de glucemia ($89,95 \pm 5,57$ vs $84,65 \pm 5,22$, $p=0,011$), insulinemia ($9,55 \pm 4,30$ vs $5,81 \pm 3,46$, $p=0,01$) y HOMA ($2,15 \pm 0,93$ vs $1,22 \pm 0,78$, $p=0,03$) en ayunas. No obstante, estas diferencias observadas en ayunas desaparecen tras la SOGr rica en grasas insaturadas en todos los puntos determinados.

Por tanto, estos resultados nos permiten decir, que los sujetos con sobrepeso sometidos a una SOGr con ácidos grasos insaturados presentan una respuesta beneficiosa en términos de IR o aumento de la sensibilidad a la insulina. Estos

resultados tienen una gran importancia clínica ya que la IR se considera un factor de riesgo cardiovascular.

Existen numerosos trabajos que muestran que sujetos con sobrepeso u obesidad (114) y alteraciones del metabolismo hidrocarbonado (115,166) tienen mayores valores de marcadores de EO en ayunas y situación postprandial. La repetición del efecto agudo de la ingesta de alimentos (especialmente con comidas con alto contenido en grasas y calorías) puede contribuir al desarrollo de AE y/o favorecer la aparición de eventos cardíacos agudos (167,168). También es bien conocido que al tiempo que se produce la expansión de los depósitos de grasa abdominal, los adipocitos generan niveles aumentados de ROS que provocan un aumento en la expresión y secreción de adipoquinas inflamatorias (169–171). El EO conduce a la resistencia a la insulina, tanto en el interior del tejido adiposo como en los tejidos periféricos. El acúmulo de EO en el tejido adiposo es uno de los episodios iniciales del desarrollo del SM en la obesidad (172). Por otro lado, la pérdida de peso a través de la restricción calórica y el ejercicio pueden mejorar el estado de EO (173). No obstante, la relación causa-efecto entre EO y obesidad no es bien conocida y algunos autores han propuesto recientemente que el EO, per se, podría conducir a la ganancia ponderal contribuyendo al sobrepeso y la obesidad (174,175).

Existen pocos datos sobre el efecto de la grasa insaturada en situación postprandial en relación al IMC en los valores de EO e inflamación de bajo grado en sujetos normolipidémicos no diabéticos, que son los sujetos estudiados en nuestro trabajo. Peairs y cols. (176) estudiaron el efecto de la ingesta aguda de diferentes tipos de grasa sobre el EO y la inflamación en adultos con sobrepeso y obesidad obteniendo resultados que sugieren que el tipo de grasa podría tener diferentes influencias sobre la inflamación postprandial y la activación endotelial.

En nuestro trabajo observamos que el grupo de sobrepeso presentó en ayunas valores significativamente más elevados de GSSG y un mayor cociente GSSG/GSH comparado con el grupo de normopeso, estado de EO en ayunas en el grupo de sobrepeso comparado con el grupo de normopeso, indicando un mayor estado de EO en ayunas y mostrando resultados concordantes con estudios previos.

Después de la SOGr rica en ácidos grasos insaturados (58% ácido oleico (C18:1) y 20% ácido linoleico (C18:2)) se observó mejoría en el estado antioxidante (aumento de GSH) como se esperaba, con disminución de parámetros de EO (GSSG y cociente GSSG/GSH) en ambos grupos. No obstante, el efecto beneficioso en la reducción de GSSG fue mayor con diferencias estadísticamente significativas en sujetos con sobrepeso comparado con el efecto observado en sujetos con normopeso. La reducción en el cociente GSSG/GSH y el aumento de GSH no fue significativamente diferente entre grupos. Así, la grasa insaturada consiguió una mejoría en GSSG

mayor en sujetos con sobrepeso a pesar de presentar niveles de TG significativamente mayores tras las SOGr comparado con aquellos con normopeso.

En el estudio de Peairs y cols. (176), donde se compararon los efectos postprandiales de diferentes tipos de grasas en población con sobrepeso u obesidad, se utilizaron batidos añadiendo diferentes tipos de grasa: aceite de oliva (AGMI), aceite de oliva más 4 gramos de omega 3 procedente de aceite de pescado (AGPI) y aceite de palma (AGS). Los AGS produjeron aumentos mayores de ICAM-1 que los AGMI, mientras que los AGPI aumentaron la activación de NF- κ B comparados con los AGS. Como hemos comentado, el preparado utilizado en nuestro estudio, Supracal (SHS international Ltd.), se obtiene a partir de aceites vegetales, es rico en ácidos grasos monoinsaturados (AGMI) 56,6% , con 20,2% de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y 19,2% de ácidos grasos saturados (AGS) y no contiene polifenoles ni otros compuestos antioxidantes característicos del aceite de oliva o las nueces, por lo que los efectos beneficiosos observados en la oxidación sistémica son atribuibles directamente a la grasa insaturada.

Respecto al marcador de complemento C3 como marcador del efecto inflamatorio de la LPP (89,93) en población con sobrepeso y obesidad, diferentes estudios han mostrado que en pacientes con IR, en situación postprandial, las concentraciones plasmáticas de C3 aumentan significativamente (143). Además, este aumento también se produce en pacientes con AE precoz, reflejando la activación de este precursor de C3adesArg (partícula derivada de C3) (93) y potente estimulador de la captación celular de los AGL y de su esterificación intracelular en TG (177). Se ha observado que en el estado postprandial existen elevaciones de C3, probablemente debidas a alteraciones en la activación del factor C3, y esto se ha relacionado con el aumento del flujo de AGL al hígado característico de pacientes con IR y con deficiente aclaramiento de remanentes aterogénicos postprandiales (178). Además, la pérdida de peso en sujetos obesos mediante la realización de dietas hipocalóricas ha demostrado disminuciones de las concentraciones de C3 (179).

Los resultados obtenidos en nuestro estudio confirman que en ayunas, los sujetos con sobrepeso presentan valores de C3 significativamente mayores a los observados en sujetos con normopeso ($108 \pm 8,65$ vs $99 \pm 9,77$ mg/dl, $p=0,008$), Esta diferencia se mantiene a las 8 horas tras la SOGr ($105,75 \pm 9,73$ vs $98,45 \pm 9,21$, $p=0,04$) pero se produce un mayor descenso en los niveles de C3 en sujetos con sobrepeso comparado con aquellos con normopeso sin llegar a ser significativo. En cualquier caso, nuestros resultados indican que una SOGr con ácidos grasos insaturados, produce una respuesta beneficiosa al reducir los niveles de C3.

El presente trabajo aporta el estudio del efecto de una sobrecarga oral grasa rica en ácidos grasos insaturados en diferentes parámetros bioquímicos y marcadores de

estrés oxidativo e inflamación crónica de bajo grado en sujetos normoglucémicos, normolipidémicos y no obesos. En resumen, en nuestro estudio hemos objetivado una disminución postprandial del estado de EO tanto en sujetos con sobrepeso como en aquellos con normopeso (disminución en GSSG y cociente GSSG/GSH y aumento en GSH) utilizando una SOGr con grasa insaturada comparado con la situación en ayunas. Adicionalmente, el descenso postprandial observado en el cociente GSSG/GSH en ambos sexos fue significativamente mayor en individuos con sobrepeso comparado con el obtenido en individuos con normopeso, indicando una mejor respuesta a la grasa insaturada en los hombres. Para confirmar nuestra hipótesis deberían realizarse varios estudios controlados de intervención postprandial utilizando grasa saturada e insaturada en población sin obesidad para caracterizar las diferencias en las respuestas encontradas entre los sujetos con sobrepeso y normopeso.

Las limitaciones de nuestro estudio se resumen en:

- La sobrecarga oral grasa es una intervención aguda, por lo que no podemos extrapolar los efectos beneficiosos de la grasa insaturada a medio-largo plazo.
- La utilización de un test con preparados grasos constituye una ingesta no fisiológica de grasa.
- No se han medido niveles de estrógenos circulantes y la SOGr fue realizada en diferentes días del ciclo menstrual en las mujeres estudiadas.
- No hemos realizado un estudio comparativo con una sobrecarga grasa exclusivamente de grasa saturada.

VI. Conclusiones

VI. Conclusiones

1. La SOGr rica en ácidos grasos insaturados demostró mejoría en situación postprandial de los parámetros de EO en población con normoglucemia, normolipemia y no obesa, independientemente de la elevación plasmática de los triglicéridos.

2. Efecto del género:

2.1. La disminución de los parámetros de estrés oxidativo (GSSG y GSSG/GSH) tras la sobrecarga de grasa insaturada fue mayor en hombres que en mujeres, con diferencias estadísticamente significativas, indicando diferencias en la respuesta según género.

2.2. No se encontraron diferencias intragrupo en los parámetros de inflamación ni en hombres ni en mujeres tras la SOGr.

3. Comparación entre sujetos con sobrepeso y normopeso:

3.1. La disminución de los parámetros de estrés oxidativo (GSSG y GSSG/GSH) tras la sobrecarga de grasa insaturada fue mayor en sujetos con sobrepeso respecto al obtenido en individuos con normopeso, diferencias estadísticamente significativas, indicando una mejor respuesta y mayor beneficio en sujetos con sobrepeso.

3.2. No se encontraron diferencias intragrupo en los parámetros de inflamación ni en sujetos con normopeso ni en aquellos con sobrepeso tras la SOGr.

Se confirma la tesis que

La sobrecarga oral con grasa insaturada se relaciona con una disminución de los marcadores de estrés oxidativo más importante en hombre que en mujeres y en sujetos con sobrepeso comparado con aquellos con normopeso.

La respuesta beneficiosa de los ácidos grasos insaturados sobre los parámetros de estrés oxidativo en sujetos normoglucémicos, normolipidémicos y no obesos, no es homogénea pudiendo existir beneficios adicionales en el género masculino y en la población con sobrepeso.

VII. Bibliografía

VII. Bibliografía

1. Yusuf S, Reddy S, Ounpuu S, Anand S. Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*. 2001 Nov 27;104(22):2746–53.
2. Marrugat J, Medrano MJ, Tresserras R. La cardiopatía isquémica como causa principal de muerte en España: realidad epidemiológica, necesidades asistenciales y de investigación. *Clin Invest Arterioscl*. 2001;13:262–70.
3. Badimón JJ, Badimón L, Fuster V, editor. Fisiopatología de la enfermedad aterotrombótica coronaria. *Clin Invest Arterioscl*. 2002;14:258–71.
4. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999 Jan 14;340(2):115–26.
5. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Jan;25(1):29–38.
6. Wallace JP, Johnson B, Padilla J, Mather K. Postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function: a review. *Int J Clin Pract*. 2010 Feb;64(3):389–403.
7. Paglialunga S, Cianflone K. Regulation of postprandial lipemia: an update on current trends. *Appl Physiol Nutr Metab Physiol Appliquée Nutr Métabolisme*. 2007 Feb;32(1):61–75.
8. Lander HM. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol*. 1997 Feb;11(2):118–24.
9. Maher P, Schubert D. Signalling by reactive oxygen species in the nervous system. *Cell Mol Life Sci*. 2000;50:686–9.
10. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005 Apr 21;352(16):1685–95.
11. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arter Thromb Vasc Biol*. 2004;24:816–23.

12. Mueller CFH, Laude K, McNally JS, Harrison DG. ATVB in focus: redox mechanisms in blood vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Feb;25(2):274–8.
13. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol.* 2004 May;142(2):231–55.
14. Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes* 2005. 2006 Mar;30(3):400–18.
15. Elahi MM, Kong YX, Matata BM. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease. *Oxid Med Cell Longev.* 2009 Dec;2(5):259–69.
16. Simonian NA, Coyle JT. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 1996;36:83–106.
17. Cerutti PA, Trump BF. Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer Cells Cold Spring Harb N* 1989. 1991 Jan;3(1):1–7.
18. Barja G. Rate of generation of oxidative stress-related damage and animal longevity. *Free Radic Biol Med.* 2002 Nov 1;33(9):1167–72.
19. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature.* 2000 Nov 9;408(6809):239–47.
20. Krötz F, Sohn H-Y, Pohl U. Reactive oxygen species: players in the platelet game. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004 Nov;24(11):1988–96.
21. Leopold JA, Loscalzo J. Oxidative enzymopathies and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Jul;25(7):1332–40.
22. Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev.* 2004 Oct;84(4):1381–478.
23. Kunsch C, Medford RM. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res.* 1999 Oct 15;85(8):753–66.
24. Wolin MS. Interactions of oxidants with vascular signaling systems. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Jun;20(6):1430–42.
25. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res.* 2000 Nov 10;87(10):840–4.

26. Cai H. NAD(P)H oxidase-dependent self-propagation of hydrogen peroxide and vascular disease. *Circ Res*. 2005 Apr 29;96(8):818–22.
27. Dimmeler S, Hermann C, Galle J, Zehier AM. Upregulation of superoxide dismutase and nitric oxide synthase mediates the apoptosis suppressive effects of shear stress on endothelial cells. *Arter Thromb Vasc Biol*. 1999;19:656–64.
28. Tsutsui H, Ide T, Shiomi T, Kang D, Hayashidani S, Suematsu N, et al. 8-oxo-dGTPase, which prevents oxidative stress-induced DNA damage, increases in the mitochondria from failing hearts. *Circulation*. 2001 Dec 11;104(24):2883–5.
29. Porkkala-Sarataho E, Salonen JT, Nyyssönen K, Kaikkonen J, Salonen R, Ristonmaa U, Diczfalussy U, Brigelius-Flohe R, Loft S, Poulsen HE. Long-term effects of vitamin E, vitamin C, and combined supplementation on urinary 7-hydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine, serum cholesterol oxidation products, and oxidation resistance of lipids in nondepleted men. *Arter Thromb Vasc Biol*. 2000;20:2087–93.
30. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem*. 2006 Apr;52(4):601–23.
31. Hicks JJ, Torres-Ramos YD, Sierra-Vargas MP. Estrés oxidante, concepto y clasificación. *Rev Endocrinol Nutr*. 2006;14:223–6.
32. Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med*. 1999 Nov;27(9-10):922–35.
33. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol*. 2002;348:93–112.
34. Wu G, Fang Y-Z, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr*. 2004 Mar;134(3):489–92.
35. Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. *Curr Top Cell Regul*. 2000;36:95–116.
36. Valencia E, Marin A, Hardy G. Glutathione-nutritional and pharmacologic viewpoints: part I. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2001 May;17(5):428–9.
37. Franco R, Schoneveld OJ, Pappa A, Panayiotidis MI. The central role of glutathione in the pathophysiology of human diseases. *Arch Physiol Biochem*. 2007 Dec;113(4-5):234–58.

38. Napoli C, de Nigris F, Palinski W. Multiple role of reactive oxygen species in the arterial wall. *J Cell Biochem*. 2001;82(4):674–82.
39. Wassmann S, Wassmann K, Nickenig G. Modulation of oxidant and antioxidant enzyme expression and function in vascular cells. *Hypertension*. 2004 Oct;44(4):381–6.
40. Spiekermann S, Landmesser U, Dikalov S, Brecht M, Gamez G, Tatge H, Reepschlager J. Electron spin resonance characterization of vascular xanthine and NAD(P)H oxidase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium –dependent vasodilatation. *Circulation*. 2003;107:1383–9.
41. Szöcs K, Lassègue B, Sorescu D, Hilenski LL, Valppu L, Couse TL, et al. Upregulation of Nox-based NAD(P)H oxidases in restenosis after carotid injury. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Jan;22(1):21–7.
42. Landmesser U, Merten R, Spiekermann S, Buttner K, Drexler H, Horning B. Vascular extracellular superoxide dismutase activity in patients coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation. 2000;101(*Circulation*):2264–70.
43. Lapenna D, de Gioia S, Ciofani G, Mezzetti A, Ucchino S, Calafiore AM, et al. Glutathione-related antioxidant defenses in human atherosclerotic plaques. *Circulation*. 1998 May 19;97(19):1930–4.
44. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Torzewski M, Hafner G, Tiret L, et al. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2003 Oct 23;349(17):1605–13.
45. Paoletti R, Gotto AM, Hajjar DP. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III20–6.
46. Libby P, Ridker PM, Hansson GK, Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Dec 1;54(23):2129–38.
47. Weber C, Noels H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options. *Nat Med*. 2011;17(11):1410–22.
48. Davignon J, Ganz P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*. 2004 Jun 15;109(23 Suppl 1):III27–32.
49. Brevetti G, Martone VD, de Cristofaro T, Corrado S, Silvestro A, Di Donato AM, et al. High levels of adhesion molecules are associated with impaired

- endothelium-dependent vasodilation in patients with peripheral arterial disease. *Thromb Haemost.* 2001 Jan;85(1):63–6.
50. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, Koch W, Laugwitz KL, Adelsberger H, et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation.* 1998 Sep 22;98(12):1164–71.
 51. Tsao PS, Wang B, Buitrago R, Shyy JY, Cooke JP. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation.* 1997 Aug 5;96(3):934–40.
 52. Takahashi M, Kitagawa S, Masuyama JI, Ikeda U, Kasahara T, Takahashi YI, et al. Human monocyte-endothelial cell interaction induces synthesis of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Circulation.* 1996 Mar 15;93(6):1185–93.
 53. Tintut Y, Patel J, Parhami F, Demer LL. Tumor necrosis factor- α promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation.* 2000 Nov 21;102(21):2636–42.
 54. Szmitko PE, Wang C-H, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation.* 2003 Oct 21;108(16):1917–23.
 55. Rectenwald JE, Moldawer LL, Huber TS, Seeger JM, Ozaki CK. Direct evidence for cytokine involvement in neointimal hyperplasia. *Circulation.* 2000 Oct 3;102(14):1697–702.
 56. Brizzi MF, Formato L, Dentelli P, Rosso A, Pavan M, Garbarino G, et al. Interleukin-3 stimulates migration and proliferation of vascular smooth muscle cells: a potential role in atherogenesis. *Circulation.* 2001 Jan 30;103(4):549–54.
 57. Simonini A, Moscucci M, Muller DW, Bates ER, Pagani FD, Burdick MD, et al. IL-8 is an angiogenic factor in human coronary atherectomy tissue. *Circulation.* 2000 Apr 4;101(13):1519–26.
 58. Davies MJ, Woolf N, Rowles PM, Pepper J. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart J.* 1988 Dec;60(6):459–64.
 59. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002 Dec 19;420(6917):868–74.

60. Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med*. 2001 Apr 5;344(14):1058–66.
61. Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med*. 2001 Apr 12;344(15):1140–4.
62. Noris M, Remuzzi G. Overview of complement activation and regulation. *Semin Nephrol*. 2013 Nov;33(6):479–92.
63. Sarma JV, Ward PA. The complement system. *Cell Tissue Res*. 2011 Jan;343(1):227–35.
64. Hertle E, van Greevenbroek MMJ, Stehouwer CDA. Complement C3: an emerging risk factor in cardiometabolic disease. *Diabetologia*. 2012 Apr;55(4):881–4.
65. Onat A, Can G, Rezvani R, Cianflone K. Complement C3 and cleavage products in cardiometabolic risk. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2011 Jun 11;412(13-14):1171–9.
66. Engström G, Hedblad B, Eriksson K-F, Janzon L, Lindgärde F. Complement C3 is a risk factor for the development of diabetes: a population-based cohort study. *Diabetes*. 2005 Feb;54(2):570–5.
67. Van Greevenbroek MMJ, Jacobs M, van der Kallen CJH, Vermeulen VMM-J, Jansen EHJM, Schalkwijk CG, et al. The cross-sectional association between insulin resistance and circulating complement C3 is partly explained by plasma alanine aminotransferase, independent of central obesity and general inflammation (the CODAM study). *Eur J Clin Invest*. 2011 Apr;41(4):372–9.
68. Muscari A, Antonelli S, Bianchi G, Cavrini G, Dapporto S, Ligabue A, et al. Serum C3 is a stronger inflammatory marker of insulin resistance than C-reactive protein, leukocyte count, and erythrocyte sedimentation rate: comparison study in an elderly population. *Diabetes Care*. 2007 Sep;30(9):2362–8.
69. Markiewski MM, Lambris JD. The role of complement in inflammatory diseases from behind the scenes into the spotlight. *Am J Pathol*. 2007 Sep;171(3):715–27.
70. Castro-Cabezas M, Ordovás JM, Carmena R. Factores de riesgo cardiovascular. Lípidos plasmáticos y riesgo coronario. *Hiperlipemias: clínica y tratamiento*. Doyma; 1999. p. 173–92.

71. Karpe F, Tornvall P, Olivecrona T, Steiner G, Carlson LA, Hamsten A. Composition of human low density lipoprotein: effects of postprandial triglyceride-rich lipoproteins, lipoprotein lipase, hepatic lipase and cholesteryl ester transfer protein. *Atherosclerosis*. 1993 Jan 4;98(1):33–49.
72. Castro Cabezas M, Erkelens DW, Kock LA, De Bruin TW. Postprandial apolipoprotein B100 and B48 metabolism in familial combined hyperlipidaemia before and after reduction of fasting plasma triglycerides. *Eur J Clin Invest*. 1994 Oct;24(10):669–78.
73. Austin MA. Plasma triglyceride as a risk factor for cardiovascular disease. *Can J Cardiol*. 1998 May;14 Suppl B:14B – 17B.
74. Castelli WP. Epidemiology of triglycerides: a view from Framingham. *Am J Cardiol*. 1992 Dec 14;70(19):3H – 9H.
75. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J Cardiovasc Risk*. 1996 Apr;3(2):213–9.
76. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation*. 1979 Sep;60(3):473–85.
77. Boquist S, Ruotolo G, Tang R, Björkegren J, Bond MG, de Faire U, et al. Alimentary lipemia, postprandial triglyceride-rich lipoproteins, and common carotid intima-media thickness in healthy, middle-aged men. *Circulation*. 1999 Aug 17;100(7):723–8.
78. Speidel MT, Booyse FM, Abrams A, Moore MA, Chung BH. Lipolyzed hypertriglyceridemic serum and triglyceride-rich lipoprotein cause lipid accumulation in and are cytotoxic to cultured human endothelial cells. High density lipoproteins inhibit this cytotoxicity. *Thromb Res*. 1990 May 1;58(3):251–64.
79. Stampfer MJ, Krauss RM, Ma J, Blanche PJ, Holl LG, Sacks FM, et al. A prospective study of triglyceride level, low-density lipoprotein particle diameter, and risk of myocardial infarction. *JAMA J Am Med Assoc*. 1996 Sep 18;276(11):882–8.
80. Bansal S, Buring JE, Rifai N, Mora S, Sacks FM, Ridker PM. Fasting compared with nonfasting triglycerides and risk of cardiovascular events in women. *JAMA J Am Med Assoc*. 2007 Jul 18;298(3):309–16.

81. Nordestgaard BG, Benn M, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Nonfasting triglycerides and risk of myocardial infarction, ischemic heart disease, and death in men and women. *JAMA J Am Med Assoc.* 2007 Jul 18;298(3):299–308.
82. Castro Cabezas M, Halkes CJ, Meijssen S, van Oostrom AJ, Erkelens DW. Diurnal triglyceride profiles: a novel approach to study triglyceride changes. *Atherosclerosis.* 2001 Mar;155(1):219–28.
83. Jagla A, Schrezenmeir J. Postprandial triglycerides and endothelial function. *Exp Clin Endocrinol Diabetes Off J Ger Soc Endocrinol Ger Diabetes Assoc.* 2001;109(4):S533–47.
84. Van Oostrom AJHHM, Sijmonsma TP, Verseyden C, Jansen EHJM, de Koning EJP, Rabelink TJ, et al. Postprandial recruitment of neutrophils may contribute to endothelial dysfunction. *J Lipid Res.* 2003 Mar;44(3):576–83.
85. Van Oostrom AJHHM, Rabelink TJ, Verseyden C, Sijmonsma TP, Plokker HWM, De Jaegere PPT, et al. Activation of leukocytes by postprandial lipemia in healthy volunteers. *Atherosclerosis.* 2004 Nov;177(1):175–82.
86. Van Oostrom AJHHM, Plokker HWM, van Asbeck BS, Rabelink TJ, van Kessel KPM, Jansen EHJM, et al. Effects of rosuvastatin on postprandial leukocytes in mildly hyperlipidemic patients with premature coronary sclerosis. *Atherosclerosis.* 2006 Apr;185(2):331–9.
87. Alipour A, van Oostrom AJHHM, Izraeljan A, Verseyden C, Collins JM, Frayn KN, et al. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008 Apr;28(4):792–7.
88. Burdge GC, Calder PC. Plasma cytokine response during the postprandial period: a potential causal process in vascular disease? *Br J Nutr.* 2005 Jan;93(1):3–9.
89. Alipour A, Elte JWF, van Zaanen HCT, Rietveld AP, Castro Cabezas M. Novel aspects of postprandial lipemia in relation to atherosclerosis. *Atheroscler Suppl.* 2008 Sep;9(2):39–44.
90. Van Oostrom AJHHM, Alipour A, Plokker TWM, Sniderman AD, Cabezas MC. The metabolic syndrome in relation to complement component 3 and postprandial lipemia in patients from an outpatient lipid clinic and healthy volunteers. *Atherosclerosis.* 2007 Jan;190(1):167–73.

91. Meijssen S, van Dijk H, Verseyden C, Erkelens DW, Cabezas MC. Delayed and exaggerated postprandial complement component 3 response in familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 May 1;22(5):811–6.
92. Verseyden C, Meijssen S, van Dijk H, Jansen H, Castro Cabezas M. Effects of atorvastatin on fasting and postprandial complement component 3 response in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res.* 2003 Nov;44(11):2100–8.
93. Halkes CJ, van Dijk H, de Jaegere PP, Plokker HW, van Der Helm Y, Erkelens DW, et al. Postprandial increase of complement component 3 in normolipidemic patients with coronary artery disease: effects of expanded-dose simvastatin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001 Sep;21(9):1526–30.
94. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S, et al. Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. The Research Group ATS-RF2 of the Italian National Research Council. *JAMA J Am Med Assoc.* 1990 Feb 2;263(5):688–92.
95. De Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet.* 1994 Jun 11;343(8911):1454–9.
96. Covas M-I, Konstantinidou V, Fitó M. Olive oil and cardiovascular health. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2009 Dec;54(6):477–82.
97. Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Mata P. Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis.* 2002 Aug;163(2):385–98.
98. Fitó M, Guxens M, Corella D, Sáez G, Estruch R, de la Torre R, et al. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med.* 2007 Jun 11;167(11):1195–203.
99. Salas-Salvadó J, Garcia-Arellano A, Estruch R, Marquez-Sandoval F, Corella D, Fiol M, et al. Components of the Mediterranean-type food pattern and serum inflammatory markers among patients at high risk for cardiovascular disease. *Eur J Clin Nutr.* 2008 May;62(5):651–9.
100. Nappo F, Esposito K, Cioffi M, Giugliano G, Molinari AM, Paolisso G, et al. Postprandial endothelial activation in healthy subjects and in type 2 diabetic patients: role of fat and carbohydrate meals. *J Am Coll Cardiol.* 2002 Apr 3;39(7):1145–50.

101. Tsai W-C, Li Y-H, Lin C-C, Chao T-H, Chen J-H. Effects of oxidative stress on endothelial function after a high-fat meal. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 2004 Mar;106(3):315–9.
102. Lacroix S, Rosiers CD, Tardif J-C, Nigam A. The role of oxidative stress in postprandial endothelial dysfunction. *Nutr Res Rev*. 2012 Dec;25(2):288–301.
103. Cortés B, Núñez I, Cofán M, Gilabert R, Pérez-Heras A, Casals E, et al. Acute effects of high-fat meals enriched with walnuts or olive oil on postprandial endothelial function. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Oct 17;48(8):1666–71.
104. Jiménez-Gómez Y, López-Miranda J, Blanco-Colio LM, Marín C, Pérez-Martínez P, Ruano J, et al. Olive oil and walnut breakfasts reduce the postprandial inflammatory response in mononuclear cells compared with a butter breakfast in healthy men. *Atherosclerosis*. 2009 Jun;204(2):e70–6.
105. Cox-York KA, Sharp TA, Stotz SA, Bessesen DH, Pagliassotti MJ, Horton TJ. The effects of sex, metabolic syndrome and exercise on postprandial lipemia. *Metabolism*. 2013 Feb;62(2):244–54.
106. Tentor J, Harada LM, Nakamura RT, Gidlund M, Castilho LN, Cotta de Faria E. Sex-dependent variables in the modulation of postalimentary lipemia. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2006 Jan;22(1):9–15.
107. Bell HK, Bloomer RJ. Impact of serum estradiol on postprandial lipemia, oxidative stress, and inflammation across a single menstrual cycle. *Gend Med*. 2010 Apr;7(2):166–78.
108. Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, Bergeron J, Tremblay A, Bouchard C, et al. Gender difference in postprandial lipemia: importance of visceral adipose tissue accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999 Oct;19(10):2448–55.
109. Bloomer RJ, Fisher-Wellman KH. Lower postprandial oxidative stress in women compared with men. *Gend Med*. 2010 Aug;7(4):340–9.
110. González C, Real JT, Bartual A, Chaves FJ, García-García AB, Blesa S, et al. [Determinants of postprandial lipemia measured as diurnal triglyceride profile in non diabetic normolipidemic subjects]. *Med Clínica*. 2005 Oct 8;125(12):448–52.
111. Van Oostrom AJ, Real JT, Carmena R, Ascaso JF, Castro Cabezas M. Daylong triglyceridaemia in healthy Mediterranean and northern European subjects. *Neth J Med*. 2004 Sep;62(8):279–85.

112. Real JT, Martínez-Hervás S, Tormos MC, Domenech E, Pallardó FV, Sáez-Tormo G, et al. Increased oxidative stress levels and normal antioxidant enzyme activity in circulating mononuclear cells from patients of familial hypercholesterolemia. *Metabolism*. 2010 Feb;59(2):293–8.
113. Pedro T, Martinez-Hervas S, Tormo C, García-García AB, Saez-Tormo G, Ascaso JF, et al. Oxidative stress and antioxidant enzyme values in lymphomonocytes after an oral unsaturated fat load test in familial hypercholesterolemic subjects. *Transl Res J Lab Clin Med*. 2013 Jan;161(1):50–6.
114. Patel C, Ghanim H, Ravishankar S, Sia CL, Viswanathan P, Mohanty P, et al. Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-kappaB activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007 Nov;92(11):4476–9.
115. Ceriello A. Effects of macronutrient excess and composition on oxidative stress: relevance to diabetes and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*. 2006 Nov;8(6):472–6.
116. Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin Chem*. 1974 Apr;20(4):470–5.
117. Burstein M, Scholnick HR, Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res*. 1970 Nov;11(6):583–95.
118. Havel RJ, Eder HA, Bragdon JH. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest*. 1955 Sep;34(9):1345–53.
119. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972 Jun;18(6):499–502.
120. Rosseneu M, Vercaemst R, Steinberg KK, Cooper GR. Some considerations of methodology and standardization of apolipoprotein B immunoassays. *Clin Chem*. 1983 Mar;29(3):427–33.
121. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985 Jul;28(7):412–9.

122. Brigelius R, Muckel C, Akerboom TP, Sies H. Identification and quantitation of glutathione in hepatic protein mixed disulfides and its relationship to glutathione disulfide. *Biochem Pharmacol*. 1983 Sep 1;32(17):2529–34.
123. Navarro J, Obrador E, Pellicer JA, Aseni M, Viña J, Estrela JM. Blood glutathione as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans. *Free Radic Biol Med*. 1997;22(7):1203–9.
124. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr*. 2007 Sep;98(3):458–73.
125. Powers SK, Nelson WB, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med*. 2011 Sep 1;51(5):942–50.
126. Pinto A, Di Raimondo D, Tuttolomondo A, Buttà C, Milio G, Licata G. Effects of physical exercise on inflammatory markers of atherosclerosis. *Curr Pharm Des*. 2012;18(28):4326–49.
127. Axelsen M, Eliasson B, Joheim E, Lenner RA, Taskinen MR, Smith U. Lipid intolerance in smokers. *J Intern Med*. 1995 May;237(5):449–55.
128. Van der Vaart H, Postma DS, Timens W, ten Hacken NHT. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax*. 2004 Aug;59(8):713–21.
129. Fielding BA, Reid G, Grady M, Humphreys SM, Evans K, Frayn KN. Ethanol with a mixed meal increases postprandial triacylglycerol but decreases postprandial non-esterified fatty acid concentrations. *Br J Nutr*. 2000 Jun;83(6):597–604.
130. Pownall HJ, Ballantyne CM, Kimball KT, Simpson SL, Yeshurun D, Gotto AM. Effect of moderate alcohol consumption on hypertriglyceridemia: a study in the fasting state. *Arch Intern Med*. 1999 May 10;159(9):981–7.
131. Mahley RW, Palaoğlu KE, Atak Z, Dawson-Pepin J, Langlois AM, Cheung V, et al. Turkish Heart Study: lipids, lipoproteins, and apolipoproteins. *J Lipid Res*. 1995 Apr;36(4):839–59.
132. Weintraub MS, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary fat clearance in normal subjects is regulated by genetic variation in apolipoprotein E. *J Clin Invest*. 1987 Dec;80(6):1571–7.

133. Lopez-Miranda J, Marin C. Fat detection: taste, texture, and post ingestive effects. Dietary, Physiological, and Genetic Impacts on Postprandial Lipid Metabolism. Montmayeur JP, le Coutre J, editors. Boca Raton (FL): CRC Press; 2010.
134. Roche HM. Dietary carbohydrates and triacylglycerol metabolism. *Proc Nutr Soc.* 1999 Feb;58(1):201–7.
135. Lia A, Andersson H, Mekki N, Juhel C, Senft M, Lairon D. Postprandial lipemia in relation to sterol and fat excretion in ileostomy subjects given oat-bran and wheat test meals. *Am J Clin Nutr.* 1997 Aug;66(2):357–65.
136. Cabezas MC, de Bruin TW, Westerveld HE, Meijer E, Erkelens DW. Delayed chylomicron remnant clearance in subjects with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *J Intern Med.* 1998 Oct;244(4):299–307.
137. Cardona F, Túnez I, Tasset I, Garrido-Sánchez L, Collantes E, Tinahones FJ. Circulating antioxidant defences are decreased in healthy people after a high-fat meal. *Br J Nutr.* 2008 Aug;100(2):312–6.
138. Uiterwaal CS, Grobbee DE, Witteman JC, van Stiphout WA, Krauss XH, Havekes LM, et al. Postprandial triglyceride response in young adult men and familial risk for coronary atherosclerosis. *Ann Intern Med.* 1994 Oct 15;121(8):576–83.
139. Vina J, Gambini J, Lopez-Grueso R, Abdelaziz KM, Jove M, Borras C. Females live longer than males: role of oxidative stress. *Curr Pharm Des.* 2011 Dec 1;17(36):3959–65.
140. Malorni W, Campesi I, Straface E, Vella S, Franconi F. Redox features of the cell: a gender perspective. *Antioxid Redox Signal.* 2007 Nov;9(11):1779–801.
141. Arenas IA, Armstrong SJ, Xu Y, Davidge ST. Chronic tumor necrosis factor- α inhibition enhances NO modulation of vascular function in estrogen-deficient rats. *Hypertension.* 2005 Jul;46(1):76–81.
142. Ceriello A, Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, Da Ros R, Maier A, et al. Effect of postprandial hypertriglyceridemia and hyperglycemia on circulating adhesion molecules and oxidative stress generation and the possible role of simvastatin treatment. *Diabetes.* 2004 Mar;53(3):701–10.
143. Halkes CJM, van Dijk H, Verseyden C, de Jaegere PPT, Plokker HWM, Meijssen S, et al. Gender differences in postprandial ketone bodies in normolipidemic

- subjects and in untreated patients with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003 Oct 1;23(10):1875–80.
144. Fuentes F, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, Jiménez Y, Marín C, Gómez P, et al. Chronic effects of a high-fat diet enriched with virgin olive oil and a low-fat diet enriched with alpha-linolenic acid on postprandial endothelial function in healthy men. *Br J Nutr.* 2008 Jul;100(1):159–65.
 145. Yubero-Serrano EM, Delgado-Casado N, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Tasset-Cuevas I, Santos-Gonzalez M, et al. Postprandial antioxidant effect of the Mediterranean diet supplemented with coenzyme Q10 in elderly men and women. *Age Dordr Neth.* 2011 Dec;33(4):579–90.
 146. Masella R, Vari R, D'Archivio M, Di Benedetto R, Matarrese P, Malorni W, et al. Extra virgin olive oil biophenols inhibit cell-mediated oxidation of LDL by increasing the mRNA transcription of glutathione-related enzymes. *J Nutr.* 2004 Apr;134(4):785–91.
 147. Weinbrenner T, Fitó M, de la Torre R, Saez GT, Rijken P, Tormos C, et al. Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *J Nutr.* 2004 Sep;134(9):2314–21.
 148. Machowetz A, Poulsen HE, Gruendel S, Weimann A, Fitó M, Marrugat J, et al. Effect of olive oils on biomarkers of oxidative DNA stress in Northern and Southern Europeans. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 2007 Jan;21(1):45–52.
 149. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Pavlidis AN, Salpea KD, Iraklianiou SA, Hoursalas IS, et al. Metabolic syndrome and gender differences in postprandial lipaemia. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil Off J Eur Soc Cardiol Work Groups Epidemiol Prev Card Rehabil Exerc Physiol.* 2006 Aug;13(4):661–4.
 150. Ascaso JF, Romero P, Real JT, Lorente RI, Martínez-Valls J, Carmena R. Abdominal obesity, insulin resistance, and metabolic syndrome in a southern European population. *Eur J Intern Med.* 2003 Mar;14(2):101–6.
 151. Warram JH, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med.* 1990 Dec 15;113(12):909–15.

152. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*. 2001 Apr;24(4):683–9.
153. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005 Oct 25;112(17):2735–52.
154. Van Oostrom AJ, van Dijk H, Verseyden C, Sniderman AD, Cianflone K, Rabelink TJ, et al. Addition of glucose to an oral fat load reduces postprandial free fatty acids and prevents the postprandial increase in complement component 3. *Am J Clin Nutr*. 2004 Mar;79(3):510–5.
155. Ascaso JF, Real JT, Carmena R. Insulin resistance and familial dyslipidaemias. *Diabetes Obes Metab*. 1999 Nov;1(6):323–30.
156. Carmena R, Ascaso JF, Real JT. Impact of obesity in primary hyperlipidemias. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD*. 2001 Oct;11(5):354–9.
157. Blackburn P, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Bergeron N, Prud'homme D, et al. Postprandial hyperlipidemia: another correlate of the “hypertriglyceridemic waist” phenotype in men. *Atherosclerosis*. 2003 Dec;171(2):327–36.
158. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Pavlidis AN, Salpea KD, Iraklianiou SA, Tzarpalis K, et al. Postprandial lipemia in men with metabolic syndrome, hypertensives and healthy subjects. *Lipids Health Dis*. 2005;4:21.
159. Taira K, Hikita M, Kobayashi J, Bujo H, Takahashi K, Murano S, et al. Delayed post-prandial lipid metabolism in subjects with intra-abdominal visceral fat accumulation. *Eur J Clin Invest*. 1999 Apr;29(4):301–8.
160. Frayn KN. Insulin resistance, impaired postprandial lipid metabolism and abdominal obesity. A deadly triad. *Med Princ Pract Int J Kuwait Univ Health Sci Cent*. 2002;11 Suppl 2:31–40.
161. Halkes CJ, Castro Cabezas M, van Wijk JP, Erkelens DW. Gender differences in diurnal triglyceridemia in lean and overweight subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord J Int Assoc Study Obes*. 2001 Dec;25(12):1767–74.
162. Bartual A, González C, Martínez-Hervás S, Real JT, Chaves FJ, Priego MA, Ascaso JF, Carmena R. Perfil diurno de triglicéridos en sujetos con

- hiperlipidemia familiar combinada de una población del sur de Europa. *Clin Invest Arter*. 2005;17:10–5.
163. Bartual A, González C, Martínez Hervás S, Real JT, García García AB, Castro Cabezas M, et al. [Effect of gender and obesity on postprandial lipemia in non-diabetic normolipidemic subjects and subjects with familial combined hyperlipidemia]. *Rev Clínica Esp*. 2006 May;206(5):213–9.
 164. Carr DB, Utzschneider KM, Hull RL, Kodama K, Retzlaff BM, Brunzell JD, et al. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2004 Aug;53(8):2087–94.
 165. Van Wijk JPH, Halkes CJM, Erkelens DW, Castro Cabezas M. Fasting and daylong triglycerides in obesity with and without type 2 diabetes. *Metabolism*. 2003 Aug;52(8):1043–9.
 166. Neri S, Calvagno S, Mauceri B, Misseri M, Tsami A, Vecchio C, et al. Effects of antioxidants on postprandial oxidative stress and endothelial dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Eur J Nutr*. 2010 Oct;49(7):409–16.
 167. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Daskalopoulou SS, Mikhailidis DP, Cokkinos DV. Clinical relevance of postprandial lipaemia. *Curr Med Chem*. 2005;12(17):1931–45.
 168. O’Keefe JH, Bell DSH. Postprandial hyperglycemia/hyperlipidemia (postprandial dysmetabolism) is a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 2007 Sep 1;100(5):899–904.
 169. Otani H. Oxidative stress as pathogenesis of cardiovascular risk associated with metabolic syndrome. *Antioxid Redox Signal*. 2011 Oct 1;15(7):1911–26.
 170. DeMarco VG, Johnson MS, Whaley-Connell AT, Sowers JR. Cytokine abnormalities in the etiology of the cardiometabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2010 Apr;12(2):93–8.
 171. Keaney JF, Larson MG, Vasan RS, Wilson PWF, Lipinska I, Corey D, et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003 Mar 1;23(3):434–9.

172. Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004 Dec;114(12):1752–61.
173. Imayama I, Ulrich CM, Alfano CM, Wang C, Xiao L, Wener MH, et al. Effects of a caloric restriction weight loss diet and exercise on inflammatory biomarkers in overweight/obese postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Cancer Res*. 2012 May 1;72(9):2314–26.
174. Aroor AR, DeMarco VG. Oxidative stress and obesity: the chicken or the egg? *Diabetes*. 2014 Jul;63(7):2216–8.
175. Youn J-Y, Siu KL, Lob HE, Itani H, Harrison DG, Cai H. Role of vascular oxidative stress in obesity and metabolic syndrome. *Diabetes*. 2014 Jul;63(7):2344–55.
176. Peairs AD, Rankin JW, Lee YW. Effects of acute ingestion of different fats on oxidative stress and inflammation in overweight and obese adults. *Nutr J*. 2011;10:122.
177. Sniderman AD, Cianflone K, Arner P, Summers LK, Frayn KN. The adipocyte, fatty acid trapping, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998 Feb;18(2):147–51.
178. Ribalta J, Castro-Cabezas M, Plana N, Masana L. Visión actualizada de la hiperlipidemia familiar combinada aplicada a la mejora de su diagnóstico. 2005;17:34–47.
179. Hernández-Mijares A, Bañuls C, Bellod L, Jover A, Solá E, Morillas C, et al. Effect of weight loss on C3 and C4 components of complement in obese patients. *Eur J Clin Invest*. 2012 May;42(5):503–9.